



INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification ⁶ : C12S 11/00	A1	(11) International Publication Number: WO 97/33001 (43) International Publication Date: 12 September 1997 (12.09.97)
(21) International Application Number: PCT/US97/03411 (22) International Filing Date: 6 March 1997 (06.03.97) (30) Priority Data: 08/611,829 6 March 1996 (06.03.96) US (71) Applicants (for all designated States except US): THE REGENTS OF THE UNIVERSITY OF CALIFORNIA [US/US]; 22nd floor, 300 Lakeside Drive, Oakland, CA 94612-3550 (US). GENENCOR INTERNATIONAL, INC. [US/US]; 4 Cambridge Place, 1870 South Winton Road, Rochester, NY 14618 (US). (72) Inventors; and (75) Inventors/Applicants (for US only): HSIEH, You-lo [CN/US]; 915 Oak Avenue, Davis, CA 95616 (US). HARTZELL, Mary, Michele [US/US]; 1333 Arlington Boulevard No. 62, Davis, CA 95616 (US). BOSTON, Matthew, G. [US/US]; 10 Arch Lane, San Carlos, CA 94070 (US). CLARKSON, Kathleen, A. [US/US]; 53 28th Street, San Francisco, CA 94110 (US). COLLIER, Katherine, D. [US/US]; 915 Wilmington Way, Redwood City, CA 94062 (US). GRAYCAR, Thomas, P. [US/US]; 1166 Manzanita, Pacifica, CA 94044 (US). LARENAS, Edmund, A. [US/US]; 301 Nevada, Moss Beach, CA 94038 (US).		(74) Agents: HEDNES, M., Henry et al.; Townsend and Townsend and Crew L.L.P., 8th floor, Two Embarcadero Center, San Francisco, CA 94111-3834 (US). (81) Designated States: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ARIPO patent (GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Published With international search report.
(54) Title: ENZYME TREATMENT TO ENHANCE WETTABILITY AND ABSORBENCY OF TEXTILES (57) Abstract <p>Textile fibers are treated with enzymes in the absence of surfactants, with the effect of increasing the wettability and absorbency of the fibers. The enzymes are pectinases, cellulases, proteases, lipases or combinations thereof. The wetting properties of cotton fibers are found to be most substantially improved by treatment with a mixture of cellulase and pectinase. The effects of five hydrolyzing enzymes on improving the hydrophilicity of several polyester fabrics have been studied. Four out of the five lipases studied improve the water wetting and absorbent properties of the regular polyester fabrics more than alkaline hydrolysis under optimal conditions (3N NaOH at 55 °C for 2 hours). Compared to aqueous hydrolysis, the enzyme reactions have shown to be effective under more moderate conditions, including a relatively low concentration (0.01 g/L), a shorter reaction time (10 minutes), at an ambient temperature (25 °C). Contrary to the results with alkaline hydrolysis, the improved water wettability is accompanied by full strength retention. Lipase has also shown to be effective in improving the wetting and absorbent properties of sulfonated polyester and microdenier polyester fabrics.</p>		

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号
特表2001-502014
(P2001-502014A)

(43) 公表日 平成13年2月13日 (2001.2.13)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テマコード [*] (参考)
D 0 6 M 16/00		D 0 6 M 16/00	A
C 1 2 S 3/02		C 1 2 S 3/02	
D 0 6 B 21/00		D 0 6 B 21/00	

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 59 頁)

(21) 出願番号 特願平9-531905
 (86) (22) 出願日 平成9年3月6日 (1997.3.6)
 (85) 翻訳文提出日 平成10年9月7日 (1998.9.7)
 (86) 国際出願番号 P C T / U S 9 7 / 0 3 4 1 1
 (87) 国際公開番号 W O 9 7 / 3 3 0 0 1
 (87) 国際公開日 平成9年9月12日 (1997.9.12)
 (31) 優先権主張番号 0 8 / 6 1 1 , 8 2 9
 (32) 優先日 平成8年3月6日 (1996.3.6)
 (33) 優先権主張国 米国 (U S)

(71) 出願人 ザ リージェンツ オブ ザ ユニバーシ
ティ オブ カリフォルニア
アメリカ合衆国 94607-5200 カリフォル
ニア州 オークランド フランクリン
ストリート 1111 トウエルフスフロア
 (71) 出願人 ジェネンコル インターナショナル, イン
コーポレイテッド
アメリカ合衆国 14618 ニューヨーク州
ロチェスター サウスウィントンロード
1870 ケンブリッジプレイス 4
 (74) 代理人 弁理士 長谷 照一 (外2名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 布地の湿潤性と吸収性を高める酵素処理

(57) 【要約】

布地繊維を、界面活性剤なしで、その繊維の湿潤性と吸水性を増大する効果を有する酵素で処理する。それらの酵素は、ペクチナーゼ類、セルラーゼ類、プロテアーゼ類、リパーゼ類またはこれらの混合物である。綿繊維の湿潤特性は、セルラーゼとペクチナーゼの混合物で処理することによって最も大幅に改善されることが見出された。いく種類かのポリエステル繊維の親水性の改善に対する5種類の加水分解酵素の効果を試験した。試験を行った5種類のリパーゼのうち4種が、レギュラーポリエステル繊維の水湿潤性と吸水性を、最適条件 (3 N N a O H , 5 5 ℃ , 2 時間) 下でのアルカリ加水分解法以上に改善する。水性加水分解法に比べて、酵素反応は、周囲温度 (2 5 ℃) で、より短い反応時間 (1 0 分間) で、比較的に低い濃度 (0 . 0 1 g / L) を含む一層穏やかな条件下で有効であることが分かった。アルカリ加水分解法による試験結果と対照的に、強度が完全に保持されたままで水湿潤性が改善される。また、リパーゼがスルホン化ポリエステルおよびマイクロデニールポリエステル繊維の湿潤性と吸水性を改善するのに有効

であることも分かった。

【特許請求の範囲】

1. 布地繊維の水湿潤性と吸水性を変化させる方法であって、

前記繊維を、水性媒体中の酵素で処理することを含んでなり、

前記酵素が、ペクチナーゼ類、セルラーゼ類、プロテアーゼ類、リパーゼ類およびこれらの混合物からなる群から選択されるメンバーであり、かつ前記水性媒体が界面活性剤を実質的に含有していないことを特徴とする方法。

2. 前記酵素が、ペクチナーゼ類、セルラーゼ類およびこれらの混合物からなる群から選択されるメンバーである請求の範囲1に記載の方法。

3. 前記繊維の、前記酵素による前記繊維の前記処理が、約20℃～約60℃の範囲内の温度で行われる請求の範囲1に記載の方法。

4. さらに、前記繊維を、沸騰している水性液体中に浸漬した後、前記繊維を前記酵素で処理することを含んでなる請求の範囲1に記載の方法。

5. 前記沸騰している水性液体が水であり、かつ前記方法が、前記繊維を前記水性液体に少なくとも約0.1分間浸漬することを含んでなる請求の範囲4に記載の方法。

6. 前記布地繊維が綿繊維であり、前記酵素がペクチナーゼであり、そして前記方法がさらに、前記繊維を沸騰水中に約0.3分間～約6分間浸漬した後、前記繊維を前記酵素で処理することを含んでなる請求の範囲1に記載の方法。

7. 前記布地繊維が綿繊維であり、前記酵素がセルラーゼであり、そして前記方法がさらに、前記繊維を沸騰水中に約0.3分間～約30分間浸漬した後、前記繊維を前記酵素で処理することを含んで

なる請求の範囲1に記載の方法。

8. 前記水性媒体が、無機緩衝剤で緩衝される請求の範囲1に記載の方法。

9. 前記繊維の、前記酵素による前記処理が、約10分間～約1時間の範囲の期間続けられる請求の範囲1に記載の方法。

10. 綿繊維の水湿潤性と吸水性を増大する方法であって、

前記綿繊維を、水性媒体中の、ペクチナーゼとセルラーゼを含有してなる酵素混合物で処理することを含んでなる方法。

11. 前記水性媒体が、pHが約4～約6の水性媒体である請求の範囲10に記載の方法。

12. 前記繊維の、前記酵素の混合物による前記処理が、約25℃～約60℃の範囲内の温度で行われる請求の範囲10に記載の方法。

13. さらに、前記繊維を、前記酵素混合物で処理した後、前記繊維を、pHが約7.5～9.0の水性媒体で処理することを含んでなる請求の範囲12に記載の方法。

14. さらに、前記繊維を、沸騰水中に、約0.3分間～約30分間の範囲の期間浸漬した後、前記繊維を前記酵素混合物で処理することを含んでなる請求の範囲10に記載の方法。

15. ポリエステル繊維の物理特性を変化させる方法であって、

前記ポリエステル繊維をリパーゼの水溶液で処理して、前記ポリエステル繊維に極性基を生成させることを含んでなる方法。

16. 前記物理特性が、湿潤性、吸収性およびこれらの組合せからなる群から選択されるメンバーである請求の範囲15に記載の方法。

17. リパーゼの前記水溶液がさらに無機の緩衝剤を含んでなる請求の範囲15に記載の方法。

18. リパーゼの前記水溶液が、pHが約5.0～約9.5の水溶

液である請求の範囲17に記載の方法。

19. リパーゼの前記水溶液が、pHが約5.0～約7.5の水溶液である請求の範囲17に記載の方法。

20. リパーゼの前記水溶液が、pHが約7.5～約9.5の水溶液である請求の範囲17に記載の方法。

21. さらに、前記繊維を、前記リパーゼの前記水溶液で処理した後、前記繊維を、pHが約2.0～約5.5の水性媒体で処理することを含んでなる請求の範囲15に記載の方法。

22. リパーゼの前記水溶液が約0.01g/L～約1.0g/Lの濃度を有している請求の範囲15に記載の方法。

23. 前記処理が約20℃～約80℃の温度で実施される請求の範囲15に記載の方法。

24. 前記処理が約25℃～約35℃の温度で行われる請求の範囲15に記載の方法。

25. 請求の範囲15に記載の方法で製造される芳香族ポリエステル繊維。

26. 前記リパーゼが、有意なポリエステル結合活性を有している請求の範囲15に記載の方法。

27. 前記ポリエステルが、繊維、溶媒紡糸繊維、フィラメント、織糸、糸および布地からなる群から選択されるメンバーであり、前記布地が織布、不織布および編物の布地からなる群から選択されるメンバーである請求の範囲15に記載の方法。

【発明の詳細な説明】

布地の湿潤性と吸収性を高める酵素処理

この出願は、1996年3月6日に出願した米国特許願第08/611,829号の一部継続出願である。なお、その特許出願の開示内容をここに援用する。

この発明は、布地処理の技術分野および酵素の使用に関する発明である。

発明の背景

綿などの布地材料の繊維および布地は、接触角が $93^{\circ} \sim 95^{\circ}$ の範囲内であることから明らかなように、湿潤性が低く、かつ保水性が低くて一般に0.15 mLの水/mg繊維の桁以下であるから、生の状態で染色または仕上げを行うには適していない。セルロースベースの繊維の場合、これらの特性は、これら材料中の非セルロースの不純物が原因である。これら不純物は、典型的にはろう様または油様の性質の不純物である。これらの非セルロース物質は、アルカリ精練法によって布地を処理して除去され、この処理は、沸騰している苛性アルカリ溶液中に前記材料を浸漬することによって行われる。アルカリ精練は、時間とエネルギーの両者を消費し、そして使用済のアルカリを中和した後、かなりの量の塩を含有する排水を生成する。

ポリエステルなどの合成繊維は、同様に、水の接触角が高く、湿潤性が低く、かつ保水性が最低である。これらの効果は、セルロースベースの繊維とは対照的に、不純物が存在していることによって起きるのではなく、むしろポリエステルの表層の特性である。ポリエステル布地を染色しようとしても、標準のポリエステル繊維、そしてこれらの繊維で製造された布地は、反応の染着座席を全く持っていないので、状況は一層複雑である。ポリエステル繊維は、典型的には繊維の無定形領域中に染料を拡散させることによって染色される。また、その繊維の表層を改質することによってポリエステルの染料吸収性などの特性を改善する方法も開発されている。

物理的方法または化学的方法によってポリエステル繊維の表層を改良することは、公知である。例えば、ポリエステル繊維をカチオン染料に対して反応性にする方法として、5-スルホイソフタレートを用いて、ポリエステル繊維にアニオ

ン部位が付加されている。セルロース繊維について行われる方法と同様に、ポリエステル繊維の表層は、新たに抽出された繊維をアルカリ処理することによって改質されて、快適さが改善されかつ吸水性が増大する。これらの処理法は、米国特許第5,069,846号および米国特許第5,069,847号に開示されている。しかし、ポリエステル繊維をアルカリで処理すると、繊維強度が弱くなることが多い。

酸素類が繊維産業に使用されてきており、各種の使用法が文献に開示されている。通常用いられている酵素類としては、アミラーゼ類、セルラーゼ類、ペクチナーゼ類およびリパーゼ類がある。典型的な用途で、アミラーゼ類はサイズ剤（例えば、デンプン）を除くのに使用され、セルラーゼ類は綿繊維の表面仕上を変えるかまたは綿繊維から不純物を除くために使用され、そしてリパーゼ類は天然繊維（例えば、綿、絹など）の表層から脂肪または油を除去するのに使用される。

アミラーゼ類は布地からサイズ剤を除くのに使用されるが、そのサイズ剤は、織っている間に繊維が損傷するのを防ぐため、織る前に、糸に塗布されたものである。このサイズ剤は、その後の仕上げ工程、例えば漂白または染色の工程の前に除去される。最も一般的なサイズ剤は、デンプンである。市販されている α アミラーゼ類の例としては、AQUAZYM（登録商標）およびTERMAMYL（登録商標）（Novo Nordisk A/S社）がある。

また、酵素は、伝統的にストーンウォッシングおよび酸洗いによって行われている柔らかい手触りと流行の着古しルックを達成するため、デニム衣服の仕上にも使用されている。この目的のために用いられる酵素は、微生物のセルラーゼ類である。

綿を処理する際のセルラーゼ類の別の使用は、Roessner, U. 著、「Enzymatic degradation of impurities in cotton」、Melliand Textilberichte 74巻、144-148頁（1993年）（Melliand English 2/1993: E63-E65）に開示されている。Roessnerが開示しているセルラーゼ類は、アルカリの代替品として使用された。これらセルラーゼ類は、界面活性剤類と組み合わせて

用いられ、その界面活性剤の含有は、明らかに、湿潤性を達成するのに必要であったと考えられていた。また、その処理溶液は、特定されていないが緩衝剤を含んでいた。その酵素反応は、特定されていないが、ある時間、沸騰洗浄することによって終了された。そこに述べられている酵素処理の目的は、羽毛を除き、平滑化し、そして内部柔軟化を行うことによって、仕上げ製品の品質を改善することであった。仕上げ製品の湿潤性と吸水性を恒久的に改善するこ

とについては、何ら述べられていない。

ペクチナーゼ類は、カラムシ、アマ、アサ、およびジュートなどの繊維から多糖の不純物を除くために使用されてきており、この酵素の水溶液とともにそれら繊維を、例えば、pH 4.7で40℃にて24時間インキュベートすることによって行われている（日本国特許第4289206号）。

衣服から油汚れを除くためリパーゼ類を使用することは、洗浄剤の技術分野で公知である（例えば、米国特許第4,810,414号）。また、リパーゼ類は、布地の仕上げ処理にも使用されてきている。例えば、Petersonは、天然繊維類をリパーゼ類で処理して、残留しているトリグリセリドなどの脂肪物質を除く方法を開示している。この方法は、工程中に加えた油またはエステルのコーティングを除くのにも有用である（国際公開第WO93/13256号）。Petersonは、リパーゼ類を用いて、繊維の表層の構造エステル結合を開裂することによってポリエステル繊維の特性を変化させることについては、何ら述べていない。Lund他は、有機溶液のリパーゼを使用して、ある種の布地の表層をカルボン酸類で修飾する方法を開示している。これらリパーゼ類を用いて、これらカルボン酸と、表面に反応性ヒドロキシル基を有する繊維との間にエステルが形成される（国際公開第WO96/13632号）。

NaOHを用いての繊維のアルカリ処理法は、いくつかの固有の欠点を有する。沸騰水酸化ナトリウム水溶液を多量に使用することは、安全上の理由、便利さの面、およびアルカリ浴を中和することによって生成する大量の廃棄物の塩のため望ましくない。また、熱アルカリを用いて繊維を処理すると、繊維が損傷してその強度と耐久性が低下する。したがって、アルカリ浴の使用を避けた、布地の

湿潤性と吸収性を高める布地の処理方法は、布地加工の技術分野に著しい進歩をもたらすであろう。全く驚くべきことであるが、この発明はそのような方法を提供するものである。

発明の概要

4種のクラスの酵素類のいずれかで処理することによって、布地繊維の水潤滑性と吸収性が増大することが発見されたのである。ペクチナーゼ類、セルラーゼ類、プロテアーゼ類およびリパーゼ類を単独でまたは組み合わせて、単一の処理ステップでまたは中性の水による短時間の煮沸処理に続いて行うことによって、アルカリ精練によって達成されるのと等しいかまたはそれより優れた湿潤性と白色度が得られることが見出されたのである。これら酵素類は、アルカリ精練に伴う高いpHを不要とし、かつアルカリの除去を不要とする。また、これら酵素類は、界面活性剤およびそれに関連する費用を不要とし、そして酵素による処理は、中温で行うことができる。事実、布地類を界面活性剤なしで酵素によって処理すると、接触角が相当に小さくなり、得られる布地はアルカリ精練で処理された布地より約25～40%多い水を吸収できることが発見されたのである。

したがって、一実施態様において、この発明は、布地繊維の水湿潤性と水吸収性を変化させる方法を提供するものであり、その方法は、布地繊維類を水性媒体中で酵素により処理することを含んでおり、酵素は、ペクチナーゼ類、セルラーゼ類、プロテアーゼ類、リパーゼ類およびそれらの混合物からなる群から選択されるメンバーであり、そして水性媒体は、界面活性剤を実質的に含有していないものである。

ペクチナーゼ類とセルラーゼを組み合わせると、綿布地の水湿潤性と保水性を高めるのに特に有効であることが見出されたのである。したがって、第二の実施態様において、この発明は、綿繊維の水湿潤性と水吸収性を高める方法を提供するものであり、その方法は、水性媒体にさらにペクチナーゼとセルラーゼを含有する酵素混合物で綿繊維を処理することを含んでいる。

他の実施態様において、リパーゼ類が、従来技術の方法とは対照的に、繊維の重量減と強度損失を最小限にしながら、芳香族ポリエステル繊維の湿潤性と保

水性を劇的に改善することが、示されている。それ故、さらに他の実施態様において、この発明は、ポリエステル繊維の物理特性を変化させる方法であり、その方法は、ポリエステル繊維類をリパーゼの水溶液で処理して、繊維に極性基を生成させるものである。ポリエステル繊維の極性基は、ポリエステル繊維の湿潤性と吸収性を含む物理特性を改変することができる。この発明のこの実施態様の範囲内には、反応媒体の成分として界面活性剤を使用することが含まれる。

この発明の上記のおよび他の特徴および利点が、以下の説明により明らかになるであろう。

図面の簡単な説明

図 1 : 生のおよび精練後の綿布地の湿潤性（接触角と保水性）

▲水の接触角

●保水性

図 2 : 綿布地の物理特性に対するペクチナーゼとセルラーゼによる

る処理の効果

a. 水の接触角

b. 保水性

c. 重量減

図 3 : 綿布地の物理特性に対する、布地を100℃の水によって前処理した後の、ペクチナーゼとセルラーゼによる処理の効果

a. 水の接触角

b. 保水性

c. 厚み

図 4 : 100℃の水とペクチナーゼで時間を変えて処理した綿布地の湿潤性

▲水の接触角

●保水性

図 5 : PET布地の水濡れ接触角と保水性に対する緩衝剤、変性リパーゼおよびリパーゼEの効果

図 6 : PET布地の水濡れ特性と保水性に対するリパーゼEの濃度と反応温度

の効果

図 7 : P E T 布地の水濡れ特性と保水性に対する市販リパーゼ類の比較

図 8 : P E T 布地の水濡れ特性と保水性に対する緩衝液中リパーゼ A の濃度と温度の効果

図 9 : P E T 布地の水濡れ特性と保水性に対する水中リパーゼ A の濃度と湿度の効果

△ 25℃

▲ 35℃

図 10 : 4 種の P E T 布地の水濡れ特性と保水性に対するリパーゼ

A の効果

P E T : レギュラーポリエステルすなわちダクロン 54

S P E T : スルホン化ポリエステルすなわちダクロン 64

H S S P E T : 熱セット S P E T

マイクロデニール (Microdenier) : ミクロマティーク (micromatique) ポリエステル

図 11 : 改質 P E T 布地の保水性と水濡れ接触角の相関関係

● P E T と m P E T の布地のアルカリ加水分解、

$$y = 2.73 - 0.0033x, r = 0.982$$

■ P E T 布地のリパーゼ E による処理、

$$y = 2.31 - 0.0026x, r = 0.971$$

□ リパーゼ A によって処理した P E T N、S P E T、および m P E T の布地、

$$y = 1.96 - 0.022x, r = 0.943$$

図 12 : ポリエステル布地に結合された各種リパーゼの色原体基質変換の率

発明と好ましい実施態様の詳細な説明

この発明を実施するのに有用なベクチナーゼ類 (ベクチン酵素としても知られている) としては、ベクチンエステラーゼ類とベクチンデポリメラーゼ類がある。ベクチンデポリメラーゼ類の例は、エンドポリガラクトツロナーゼ、エンドベク

テートリアーゼ、エンドペクチンリアーゼ、エキソポリガラクトツロナーゼおよびエキソペクチンテートリアーゼである。ペクチンエステラーゼ類の起源は、高等植物類、多数の真菌類（いくつかの酵母を含む）およびある種の細菌類

である。ペクチンデポリメラーゼ類の起源は、植物の病原体で腐生栄養性真菌類ならびに細菌と酵母である。

この発明に有用なセルラーゼ類の例は、エンドグルカナーゼ、エキソグルカナーゼ、および β グルコシターゼである。「セルロース分解酵素類」または「セルラーゼ酵素類」は、真菌のエキソグルカナーゼ類またはエキソセロビオヒドロラーゼ類、エンドグルカナーゼ類および β グルコシターゼ類を意味する。これら3種の異なるタイプのセルラーゼ酵素は、相乗的に作用して、セルロースおよびその誘導体をグルコースに変換する。

天然供給源が産生するセルラーゼ組成物であって、1種以上のセロビオヒドロラーゼタイプとエンドグルカナーゼタイプの成分を含んでなり、その各成分が該供給源が産生する比率で見出されるセルラーゼ組成物は、この明細書では「完全セルラーゼ系」または「完全セルラーゼ組成物」と呼称して、その組成物から単離されるセルラーゼの分類および成分、細菌類およびいくつかの真菌が産生する不完全セルラーゼ組成物類、セルラーゼの1種以上のセロビオヒドロラーゼタイプおよび／またはエンドグルカナーゼタイプの成分を過剰産生、過少産生もしくは産生しないように遺伝子を修飾された微生物から得られるセルラーゼ組成物、または切形（トランケートされた）セルラーゼ酵素組成物から区別する。例えば、トリコデルマ・ロンギブラキアタム (*Trichoderma longibrachiatum*) 中のCBHI、CBHII、EGI、EGII、およびEGVをコードする遺伝子を分析すると、触媒コア領域またはドメイン (CCD)、ヒンジまたはリンカー領域（ここでは相互に区別なく使用）およびセルロース結合領域またはドメイン (CBD) を有するドメイン構造を呈する。切形酵素類、すなわち結合ドメインがなく触媒コアドメ

インを有する発現産物は、布地を処理するのに有用であり、この発明の範囲内に

あるとみなされる。

この発明に用いるのに好ましいのは、植物、真菌または細菌の供給源由来のセルラーゼ類である。真菌セルラーゼ類の具体例としては、トリコデルマ・ロンギブラキアタム、トリコデルマ・ビリデ (*Trichoderma viride*)、トリコデルマ・コニンギイ (*Trichoderma koningii*) を含むトリコデルマ属の種、ペニシリウム (*Penicillium*) 属の種、フミコラ・インソレンス (*Humicola insolens*) を含むフミコラ属の種、アスペルギルス (*Aspergillus*) 属の種、およびフザリウム (*Fusarium*) 属の種由来のセルラーゼ類がある。細菌セルラーゼ類は、テルモモノスポラ (*Thermomonospora*) 属の種、セルロモナス (*Cellulomonas*) 属の種、バシラス (*Bacillus*) 属の種、シュードモナス (*Pseudomonas*) 属の種、ストレプトマイセス (*Streptomyces*) 属の種およびクロストリジウム (*Clostridium*) 属の種などの微生物由来のセルラーゼ類である。この明細書に記載されているセルラーゼ組成物を製造するのに有用なセルラーゼ類を産出することができる他の微生物は、英国特許第2094826A号とPCT公報第96/29397号に開示されている。なお、これら文献の開示内容をこの明細書に援用する。

この発明に有用なプロテアーゼ類（ペプチダーゼ類としても知られている）としては、セリンペプチダーゼ類（例えば、トリプシン、キモトリプシンおよびズブチリシン類など）、チオールプロテアーゼ類（例えば、プロメラインおよびパバインなど）、アミノペプチダーゼ類、およびカルボキシペプチダーゼ類がある。プロテアーゼ類は、多種類の供給源から得ることができる。この発明の方法を実施するのに有用なプロテアーゼ類としては、例えば、米国特許第4,

990, 452号に開示されているものがある。なお、この文献の開示内容をここに援用する。

リパーゼ類は、乳汁、酵母類、細菌類、小麦胚芽、動物の供給源（例えば、脾臓）および各種の真菌類から得ることができる。この発明を実施するのに使用するリパーゼ類の例としては、カンジダ (*Candida*)、ピキア (*Pichia*)、ストレプトマイセス (*Streptomyces*)、バシラス (*Bacillus*)、シュードモナス (*Pseudomonas*)、ムーコル (*Mucor*)、リゾプス (*Rhizopus*) の属の微生物から得られ

るもの、および通常の家畜類（例えば、ブタ、ヒツジ、ウシなど）の臓器からの抽出物がある。有用なリパーゼ類の例は、米国特許第5, 278, 066号に開示されている。なお、この特許の開示内容をここに援用する。

この発明に有用な酵素類は、当分野の技術において周知の方法に従って調製することができる。例えば、標準の発酵および精製のプロトコルを利用して、自然状態または野生型の酵素組成物を調製することができる。真菌類および細菌類を含む酵素産生微生物を培養してこの発明において有用な酵素類を製造するそのような発酵法は、それ自体当業界で公知である。例えば、セルラーゼ、リパーゼ、プロテアーゼおよびペクチナーゼの組成物は、バッチ法、流加培養法および連続フロー法を含む固体培養法または深部培養法で製造することができる。発酵プロセスから産生されるこれら酵素の収集と精製も、当業界でそれ自体周知の方法で行うことができる。ある微生物に特有の発酵マトリックス内に混合している酵素組成物は、その既知の特徴と特性に基づいた精製法で得ることができる。例えば、実質的に純品成分の酵素類、すなわちセルラーゼ、プロテアーゼ、ペクチナーゼまたはリパーゼは、適切なpHにおけるイオン交換クロ

マトグラフィー、アフィニティークロマトグラフィー、サイズ排除クロマトグラフィーなどを含む、文献に発表されている容認された分離法により得ることができる。例えば、イオン交換クロマトグラフィー（通常、アニオン交換クロマトグラフィー）の場合、pHの勾配、または塩の勾配、またはpHと塩の両者の勾配で溶出することによって酵素成分を分離することができる。精製した後、所望成分の必要量を再混合することができる。

さらに、微生物を遺伝子工学で処理して、特定の酵素を過剰産生させるかまたは他の酵素またはタンパク質汚染物なしで産生させることができる。同様に、布地に用いるのに有益な追加の特性、例えば熱安定性、アルカリまたは酸に対する安定性、界面活性剤に対する安定性、広くなったpHの範囲または増大した活性を有する変異酵素を産生させることができる。このような酵素もさらにこの発明の範囲内である。

この発明にとって重要なことは、その酵素の供給源ではなく、その酵素が関連

基質に与える活性であることに留意されたい。したがって、適切な活性プロフィールを有する酵素組成物を、この発明の教示の下で与えられた用途に対して選択することができる。もちろん、特定の用途に対して特異的な酵素を選択する場合は、その酵素が如何なる条件下で使用されるかを考慮しなければならず、そして、その選択は、酵素の生化学的特徴、例えば、最適 pH、最適温度、イオンと塩の効果、その酵素が用いられる特定の条件に適合させることによって有利に改善される。この発明の範囲内の酵素類は、商業的供給者からも入手できる。供給者のいくつかとしては、ICN Biomedicals (米国カリフォルニア州コストメサ所在) ; Sigma Chemical Company (米国ミズーリ州セントルイス所在) ; Novo Nordisk

Biotech, Inc. (デンマーク所在) および Genencor International Inc. (米国ニューヨーク州ロチェスター所在) がある。

この発明に有用な緩衝剤は、繊維、布地または糸を処理しているときの望ましくない pH の変化に対して酵素組成物を安定化する、当業界で容認されている酸/塩基剤である。この観点で、多くの酵素の活性が pH 依存性であることが認識されている。例えば、特定の酵素組成物は規定の pH 範囲内で酵素活性を示し、最適酵素活性は、一般に、この規定範囲の小部分で見られる。酵素活性を示す特定の pH 範囲は、各酵素組成物によって変化する。さらに、繊維、布地または糸の酵素処理の間に、初期反応の pH が、活性を示すのに必要な pH 範囲から外れることがある。さらに、繊維、布地または糸の処理の間に、例えば、溶液の pH を変化させる反応生成物が生成することによって、pH が変化する可能性がある。いずれにしても、緩衝されていない酵素溶液が示す pH は、活性を示すのに必要な範囲外になることがある。このようなことが起こると、活性の望ましくない減少または停止が起こる。

上記のことから、酵素溶液の pH は、活性を示すのに必要な範囲内に維持しなければならない。これを達成する一方法は、単に、その系の pH を監視し、酸または塩基を添加することによって、pH を必要な pH に調節することによる方法である。しかし、好ましい実施態様では、その系の pH は、好ましくはその酵素

溶液に緩衝剤を使用することによって所望のpH範囲内に維持される。一般に、利用される酵素が活性を示す範囲内に溶液のpHを維持するため、十分な量の緩衝剤が使用される。異なる酵素組成物が、活性を示すpH範囲が異なっている限り、使用される特定の緩衝剤は、使用される特定の酵素組成物との関連で選択される。使用される酵素組成

物と一緒に使用するために選択される緩衝剤は、使用される酵素組成物にとってのpH範囲と最適値およびその溶液のpHを考慮して、当業者が容易に決定することができる。

好ましくは、使用される緩衝剤は、イオンまたは塩が存在することに関して酵素組成物と相溶性であり、かつその溶液のpHを、最適の活性を示すのに必要なpHの範囲内に維持する緩衝剤である。適切な緩衝剤としては、クエン酸ナトリウム、酢酸アンモニウム、酢酸ナトリウム、リン酸二ナトリウムなどがある。この発明を実施するのに有用な有機緩衝剤の例としては、フタル酸水素カリウム、酒石酸水素カリウム、酢酸、酢酸ナトリウムおよびトリ（ヒドロキシメチル）アミノメタンがある。この発明を実施するのに使用する無機緩衝剤の例としては、リン酸ナトリウムとリン酸カリウム（一酸塩および二酸塩を含む）、炭酸ナトリウム、重炭酸ナトリウムおよびホウ酸ナトリウムがある。緩衝剤としては、無機緩衝剤の方が好ましい。

繊維、布地または糸は、酵素の作用が布地に対して望ましい効果を与えることができる有効な条件下で、その酵素溶液とともに加温放置する。例えば、酵素で処理している間、pH、液比、温度および反応時間を調節して、酵素が作用する条件を最適化することができる。「有効な条件」とは、必然的に、酵素が基質と効率よく反応できるpH、液比および温度を意味する。各個々の酵素の反応条件は、いずれも周知の方法を用いて容易に確認することができる。

したがって、特定の酵素を添加する溶液のpHは、必然的に、その特定酵素が何であるかによって決まる。真菌のセルラーゼ類の場合、そのセルラーゼがトリコデルマ・ロンギブラキアタム由来のセルラーゼのとき、溶液のpHは、約4～7の酸性～中性の範囲に保

持することが好ましいが、フミコラ・インソレンス由来のセルラーゼは、中性範囲のpHすなわち約6～8で有効に作動する。一方、細菌供給源すなわちバシラス属の種の細菌由来のセルラーゼを使用する場合、約6～11の範囲のずっと高いpHレベルを使用することができる。リパーゼ類に関して、出願人は、各種のpHと温度で有用なリパーゼ組成物の多数の例を提供する表1-3を以下に示す。ペクチナーゼおよびプロテアーゼの組成物も同様に各種のpHレベルで有用である。しかし、ペクチナーゼ類は、約4～6のpHレベルで使用されると有効な場合が多く、そして多数のプロテアーゼ類、すなわち、バシラス属の種すなわちレントス(lentus)由来のプロテアーゼ類は、約7～11のアルカリ性pHで有効である。

ある種の用途では、塩基性であるか酸性であるかいずれかのpH値で活性である酵素を使用することが望ましい。布地に対して望ましい効果を達成するため、この発明は、反応混合物のpHを変更することや、必要に応じて酵素を何にするか(またはその起源)を変更することを含む。したがって、例えば、所望の反応条件ひいては所望の布地特性を達成するために、異なるpH値で活性であるリパーゼ類を利用することができる。表1、2および3は、異なるpH範囲にわたって活性であるリパーゼ類を提供し、そして総合すると、非常に変化する条件下で使用できる一倉庫分のリパーゼ類を供給する。この発明を実施するのに有用な異なる酵素が反応できる様々な条件を説明するためにリパーゼ類を選択してあるが、これは例示だけを目的とするもので、この発明の範囲を定義したり限定したりする意図のものではない。

表1：選択されたりパーゼ類にとって最適の温度とpH

分離株(シュドモナス)	最適 pH	最適温度(℃)
ピ-エス.セルギノーサ Ps. seruginosa (10145)	8.8-9.1	40
ピ-エス.フルオレッセンス Ps. fluorescens	8	55
ピ-エス.フルオレッセンス Ps. fluorescens (MC50)	8-9	30-40
ピ-エス.フルオレッセンス Ps. fluorescens (AFT29)	7.0	22
ピ-エス.フルオレッセンス Ps. fluorescens (AFT38)	8	35
ピ-エス.フラギ Ps. fragi (2239B)	9.5	75-80
ピ-エス.セパシア Ps. cepacia (DSM50181)	5.0	60
ピ-エス.ニトロレダセンス Ps. nitroreducens	9.5	75-80
ピ-エス. 属の種 Ps. sp. (KWI-56)	5.5-7.0	60
ピ-エス. 属の種 Ps. sp. (1-8-24)	7	60

表 2 : pH 5.5 では活性であるが pH 7.5 では活性でない

リパーゼ類を産生する微生物類

微生物	NRRL番号
カンジダ アンキューデシス <i>Candida ancudensis</i>	Y-17327
カンジダ アンタルワチカ <i>Candida antarctica</i>	Y-7954
カンジダ アトマスフェリカ <i>Candida atmospherica</i>	Y-3979
カンジダ ボンビ <i>Candida bombi</i>	Y-17081
カンジダ ブフオニイ <i>Candida buffonii</i>	Y-17082
カンジダ ロロオイ <i>Candida cacaoi</i>	Y-7302
カンジダ キレンシス <i>Candida chilensis</i>	Y-17141
カンジダ ゲオカレス <i>Candida geochares</i>	Y-17073
カンジダ リポリチカ <i>Candida lipolytica</i>	Y-2178
カンジダ マグノリエ <i>Candida magnoliae</i>	Y-2024, Y-2333, YB-4226, Y-7621, Y-7622
カンジダ マリチマ <i>Candida maritima</i>	Y-7899
カンジダ サルマンチセンシス <i>Candida salmanticensis</i>	Y-17090
カンジダ サボニカ <i>Candida savonica</i>	Y-17077
ピキア グルコジマ <i>Pichia glucozyma</i>	YB-2185
ピキア ムジコラ <i>Pichia musicola</i>	Y-7006
ピキア ペテルソニ <i>Pichia petersonii</i>	YB-3808
ピキア シルビコラ <i>Pichia silvicola</i>	Y-1678
ピキア シドヴィオルム <i>Pichia sydowiorum</i>	Y-7130
サッカロマイセス フィブリゲラ <i>Saccharomycopsis fibuligera</i>	Y-12677
チェーンニア プルプロゲナ <i>Chainia purpurogena</i>	B-2952
ストレプトマイセス アウエリス <i>Streptomyces aueris</i>	B-16044
ストレプトマイセス フラボビレンス <i>Streptomyces flavovirens</i>	B-2685
アルカリゲネス フェカリス <i>Alcaligenes faecalis</i>	B-1695
バシラス アミロリクエファシエンス <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	B-207
バシラス メガテリウム <i>Bacillus megaterium</i>	B-1827, B-1851, B-352, B-47
バシラス サブチリス <i>Bacillus subtilis</i>	B-554
シュードモナス アシドボラン <i>Pseudomonas acidovorans</i>	B-980
シュードモナス エルジーナ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B-23, B-248, B-79, B-27
シュードモナス クロロラフィス <i>Pseudomonas chlororaphis</i>	B-1869, B-2075
シュードモナス フルオレシエンス <i>Pseudomonas fluorescens</i>	B-1608, B-1897, B-258, B-2640, B-97
シュードモナス フラギー <i>Pseudomonas fragi</i>	B-955
シュードモナス ミキリゲネス <i>Pseudomonas myxogenes</i>	B-2108
シュードモナス プリダ <i>Pseudomonas putida</i>	B-1245, B-13, B-2023, B-2174, B-2336, B-254, B-805, B-931, B-2079, B-8
シュードモナス プトリファシエンス <i>Pseudomonas putrifaciens</i>	B-9517
シュードモナス レプティボラ <i>Pseudomonas reptilovora</i>	B-6, B-712
シュードモナス シンシヤネ <i>Pseudomonas synchyanea</i>	B-1246
シュードモナス ビスコウ <i>Pseudomonas viscosa</i>	B-2538

表3: pH 7.5では活性であるが pH 5.5では活性でない

リパーゼ類を産生する微生物類

微 生 物	NRRL番号
酵母類	
ピキア アルニ <i>Pichia alni</i>	Y-11625
ピキア メンブранаefaciens <i>Pichia membranaefaciens</i>	Y-1513
ピキア メイヤレ <i>Pichia meyeriae</i>	Y-12777
サカロミセス クラチゲニス <i>Saccharomycopsis crataegensis</i>	YB-192
細菌類	
アルテルモナスの種 <i>Altermonas spp.</i>	B-956, B-973
バシラス アミロリクファシエンス <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	B-1466, B-2613
バシラス サーキュランズ <i>Bacillus circulans</i>	B-383
バシラス マガテリウム <i>Bacillus magaterium</i>	B-938
シュドモナス エルジノーサ <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	B-221
シュドモナス クロロアフィス <i>Pseudomonas chloroaphis</i>	B-1541, B-1632
シュドモナス フラギ <i>Pseudomonas fragi</i>	B-2316, B-73
シュドモナス ミキソゲネス <i>Pseudomonas myxogenes</i>	B-2105
シュドモナス ペロレンス <i>Pseudomonas perolens</i>	B-1123
シュドモナス レプチロボラ <i>Pseudomonas reptilovora</i>	B-1961
シュドモナス セプトチカ <i>Pseudomonas septica</i>	B-1963, B-2082
シュドモナス スタツェリ <i>Pseudomonas stutzeri</i>	B-775
放線菌類	
ロドコッカス ロドクラウス <i>Rhodococcus rhodochrous</i>	B-16562
ストレプトマイセス アルブス <i>Streptomyces albus</i>	B-2380
真菌類	
ペニシリウム シトリナム <i>Penicillium citrinum</i>	6336

処理溶液中の酵素の量は変わってもよく、より強力な溶液がより短い処理時間で効果があることが期待される以外は、この発明にとって厳密ではない。この発明の範囲内には、当業者に知られかつ使用されているタンパク質濃度の各種測定方法、例えばローリー (Lowry) 法、COOMASSIE (登録商標) Blue 法などを使用することがある。同様に、酵素類の活性が、当業界で標準になっている方法で測定できることは、当業者には分かっているであろう。酵素の濃度は、約 0.0001 g/L ~ 約 5.0 g/L の範囲内にすることができる。大

抵の場合、酵素の濃度は、約 0.0001 g/L ～ 約 1.0 g/L の範囲内に入る。ペクチナーゼ類とセルラーゼ類は、好ましくは、約 0.1 g/L ～ 約 1.0 g/L の範囲である。リパーゼ類は、好ましくは約 0.01 g/L ～ 約 1.0 g/L の範囲内であり、最も好ましくは約 0.01 g/L ～ 約 0.2 g/L の範囲内である。プロテアーゼ類は、好ましくは、約 0.01 g/L ～ 約 0.1 g/L の範囲内である。

この発明の処理溶液は、酵素と緩衝剤の水溶液の場合が最も多いが、酵素は緩衝剤なしの水溶液でも使用できる。処理溶液は、追加の成分を含有していてもよいが、好ましくは酵素と緩衝剤だけが存在しているのがよい。一般に、処理溶液は、界面活性剤を含有していない。しかし、ポリエステルを処理するためにリパーゼを使用する場合は、処理媒体中に界面活性剤を含有させることもできる。

最適の処理温度は、使用される酵素のタイプと供給源によって変化する。酵素組成物にとって有用な反応温度は、二つの競合する要因によって支配される。第一に、温度を高くすると一般に反応挙動を向上させ、すなわち速い反応になり、低い温度で要求される反応時間に比べて反応時間を短くすることができる。したがって、反応

温度は、一般に少なくとも約 10°C 以上である。第二に、多くの酵素は、タンパク質類のように、使用される酵素の性質によって決まる所定の反応温度を超えると活性を失う。したがって、反応温度が高くなりすぎると、酵素は変性して、所望の酵素活性を失う。

有用な温度範囲は、約 10°C ～ 約 90°C であり、最も多くの場合約 20°C ～ 約 60°C の範囲内であろう。この明細書で例示しているようなペクチナーゼ類、セルラーゼ類およびプロテアーゼ類は、好ましくは約 35°C ～ 約 60°C の温度で使用するが、この明細書で例示しているようなリパーゼ類は、好ましくは約 20°C ～ 約 35°C の温度で使用する。これらの温度範囲は、単に例示しているだけであり、これらの温度範囲から外れた温度で活性である酵素を利用することはこの発明の範囲内にある。例えば、表1に示すように、異なる供給源由来のリパーゼ類は、約 22°C ～ 約 80°C の温度範囲で活性であることが知られている。さらに、

好熱性、好アルカリ性または好酸性の微生物由来の酵素を使用すると、布地を処理する間に全く極端な条件を使用する機会が与えられる。処理される布地に対して望ましい効果を速成するため、反応温度と使用する酵素の両面を変えることはこの発明の範囲内に含まれる。

最適の処理時間は、処理を行うときの温度とpHに基づいて変化するのはもちろんのこと、利用される酵素のタイプと供給源および処理溶液中の酵素の活性と濃度に基づいて変化する。ほとんどの場合、約10分間～約1時間の時間枠内で有効な処理を行うことが望ましい。好ましい反応時間は、約5分間～約30分間の範囲内にあり、約10分間が最も好ましい。

酵素による処理を終了させるには、繊維を酵素との接触から除くか、または好ましくは、処理溶液のpHまたは温度をその酵素が不

活性になる範囲に変えることによって行うことができる。この発明の他の態様では、布地を反応媒体から取り出し、次いでその酵素が不安定になるかまたは不活性になるpHの緩衝液内で布地を洗浄することによって、反応を終了させる。したがって、酸性条件下で活性の酵素で処理される布地への反応は、その繊維を、塩基性緩衝液内に浸漬するかまたは該緩衝液内で洗浄することによって終了させることができ、他方、塩基性条件下で活性の酵素を用いる布地への反応は、繊維を、酸性緩衝液内に浸漬するかまたは該緩衝液内で洗浄することによって終了させることができる。

酵素を処理を行う前に布地材料を沸騰水中に入れるこの発明の実施態様の場合、その沸騰処理に使用される水は、淡水かまたは緩衝剤水溶液である。沸騰させる際の圧力は厳密なものではなく、大気圧が一般に最も便利である。沸騰処理の期間は厳密なものではないが、最高効果は、一般に、少なくとも約0.1分、好ましくは約0.3～6分間の沸騰時間で得られる。

この発明を適用できる布地材料としては、天然もしくは合成の繊維および2種以上の異なるタイプの繊維を含有する混合物を含む繊維、糸および布地がある。天然繊維の例は、綿、リネン、大麻、亜麻、黄麻およびカラムシなどの植物繊維、およびウールモヘア、ビクーナおよび絹のような動物繊維である。合成繊維の

例は、レーヨンとTENCEL（登録商標）（再生セルロース）、アセテート（部分的にアセチル化されたセルロース誘導体）、溶媒紡糸によるセルロース（Lyocell）、トリアセテート（完全にアセチル化されたセルロース誘導体）、アズロン（azlon）（再生タンパク質）、アクリル（ポリアクリロニトリルに基いている）、アラミド（芳香族ポリアミド類に基いている）、ナイロン（脂肪族ポリアミド類に

基いている）、オレフィン（ポリプロピレンなどのポリオレフィン類に基いている）、芳香族ポリエステル（芳香族ジカルボン酸と二価アルコールのポリエステルに基いている）、スパンデックス（セグメント化ポリウレタンに基いている）およびビニヨン（ポリ塩化ビニルに基いている）である。特に関心の高い布地材料は、綿とポリエステルである。綿の好ましい酵素処理法は、ペクチナーゼによる処理法、セルラーゼによる処理法およびペクチナーゼとセルラーゼを組み合わせた処理法である。ポリエステルの好ましい酵素処理法はリパーゼによる処理法である。

ポリエステルの材料を、この発明の方法で使用する場合、この材料は、繊維、溶媒紡糸繊維のようなステーブルファイバー、フィラメント、繊維条、糸、または織られたものか、不織布かまたは編まれた繊維布地として存在していることが好ましい。ポリエステル以外の繊維を用いる場合、この発明の方法は、バラ繊維（loose fibers）、または不織布、織布若しくは編物に組み合わせされた繊維の形態の繊維に適用できる。織布と不織布が好ましい。それら繊維は、澱粉または他のサイズ剤を実質的に含有していない方がさらに好ましい。

下記実施例は、例示を目的として提供するものであり、この発明の範囲を限定する意図のものではない。

実施例

以下の実施例は、綿およびポリエステルの織物（文意により区別されない限り、編物や不織布のファブリック全般を意味するものとする）の異なるタイプの処理法を例示し、あるものはこの発明によ

る酵素を含み、残りは従来技術を表しており、そして試料の湿潤特性と構造上の特性に対するこれら処理法の効果を示す。下記「材料と方法」の項に記載の技術は、全実施例を通して適用するものである。

<材料と方法>

一般事項

化学薬剤は、試薬グレードのリン酸ナトリウム (Fisher Scientific) を除いて、全て保証 A C S グレードであった。水の精製には、Millipore Mill-Q Water Systemを使用した。反応温度は、タイプ T の銅 (+) - コンスタンタン (-) テフロンコート温度プローブ付きの Omega 温度制御器 (model CN7600) で監視した。混合は、液面の直下に沈めて用いる 1 インチ直径の羽根を備えた、上載せ型 (top loading) 低速バーナント (Barnant) ミキサで促進した。処理に続いて、その織物を乾燥し、重量の変化を ΔW (%) として算出した。

$$\Delta W_i(\%) = \left[\frac{(W_i - W_f)}{W_i} \right] \cdot 100 \quad \cdots \text{式 1}$$

式中、 W_i は織物の初期重量であり、 W_f は、織物の最終重量である。

織物の特性の決定

織物の打込本数 (count) と厚みは、A S T M 法 1 9 1 0 によって測定した。糸の引張り特性は、標準のニューマティックグリップ付き I n s t r o n 引張試験機 (モデル 1 1 2 2 T M) を用いて測定

した (A S T M 法 2 2 5 6)。合計 2 0 本の経糸を、7. 5 c m の標点距離および 2 0 0 m m / m i n のひずみ速度で測定した。糸の綿密度は、糸を少なくとも 2 4 時間コンディショニングを行った後、2 0 本の 4 c m 長の部分の重量を平均することによって算出した。T 検定法を用いて、試料間の有意差を決定した。

M i n o l t a 分光光度計 (モデル C M - 2 0 0 2) を用いて、織物試料の色を測定した。Commission International de l'Eclairage (C I E) が定義した L' a' b' 色空間値を、1 0 ° の標準のオブザーバー角度で、C I E s t a n d a r d i l l u m i n a n t D (6 5 0 0 K 昼光) を用いて集めた。L' 値は、織物試料の明度を示すのに用いた。すなわち、L' 値が高ければ高いほど、

色は明るい。各試料の記録された織物の色は、その織物のランダムに選んだ5箇所から得た5個の測定値の平均値である。

水の接触角

織物の水接触角 (CA) は、張力計で測定した湿潤力 (Fw) から算出した。接触角を測定する詳細な試験手順は、報告されている。Hsieh, Y.L. 他、Textile Research Journal) 62 巻 (11 号)、677~685 頁 (1992 年)。水接触角とその測定の基礎になっている理論も報告されている。Hsieh, Y.L., Textile Research Journal、65 巻 (5 号)、299~307 頁 (1995 年)。なお、これら両文献をここに援用する。その測定装置は、R.G. Cahn 電子微量天秤、Oriental 可逆トランスレータ (モデル 16617) でインタフェースされたモーターマイクコントローラ (モデル 18008)、Keithley 自動レンジ調節マルチメータ (モデル 175)、および ABB Goerz ストリップチャートレコーダ

(モデル SE120) を含んでいる。上記トランスレータコントローラは、湿潤液を、織物試料の下端まで移動させることによって、湿潤液と吊り下げた織物試料との接触を案内する。

水 ($\gamma = 72.6$ ダイン/cm) およびヘキサデカン ($\gamma = 26.7$ ダイン/cm) 中で2回ずつ続けて湿潤力を測定して、織物試料に対する水の接触角を測定した。第一の測定は、水中で行い、水中での湿潤力と保水性を求めた。湿潤力は、下記式に示すように、前向き (advancing) の定常状態湿潤力値 (B_{11}) と保持されている液体の全重量 (B_{10}) の差であった。

$$F_v = (B_{11} - B_{10}) \cdot g \quad \cdots \text{式 2}$$

式中、 F_v は織物試料上での液体の鉛直力を示し、 F_w は下記式で表される。

$$F_v = p \gamma_{lv} \cos \theta \quad \cdots \text{式 3}$$

式中、 γ_{lv} は湿潤液の表面張力であり、 p は織物試料のペリメータ (perimeter) であり、そして θ は水の CA である。

乾燥後、ヘキサデカン内での第二の測定値を用いて、試料のペリメータを算出して、試料の垂直液体保持容量を求めた。CA をゼロと仮定して、試料のペリメ

ータをヘキサデカン内での湿潤力 ($F_{h,100}$) から算出した。

$$p = \frac{F_{h,100}}{\gamma_{LV}} \quad \dots \text{式 4}$$

既知の γ_{LV} と p によって、水の CA は水の湿潤力 (F_w) から求めることができる。

$$\theta = \left[\frac{\cos^{-1} \cdot F_w}{p \gamma_{LV}} \right] \quad \dots \text{式 5}$$

垂直液体保持容量 (C_v) と水保持量 (C_w) の値を、ヘキサデカンと水それぞれの中で保持された全液体の重量 (B_{sp}) から誘導した。液体保持量 C の値 ($\mu l / g$) は、試料の重量によって正規化した。

$$C = \frac{\left[\frac{B_{sp}}{W_s} \right]}{\rho} \quad \dots \text{式 6}$$

式中、 ρ は、 C_v または C_w それぞれを誘導するときの、ヘキサデカンまたは水の密度である。ヘキサデカンの液体保持容量は、液体を保持する細孔の全容積を示す。各織物について、5 回ずつ測定して平均値を求めた。

また、液体保持容量 (C_l) は、織物の多孔度およびその液体と固体の密度から算出できる。

$$C_l = \frac{\rho_l}{\rho_f} \cdot \frac{\phi}{1-\phi} \quad \dots \text{式 7}$$

式中、 ρ_l は液体の密度である。さらに、織物の最大液体保持容量 (C_m) は、織物をヘキサデカン中に 25 分間浸漬する前 (W_d) と後 (W_w) に重量をはかって、測定することができる。

$$C_m = (W_w - W_d) / W_d \quad \dots \text{式 8}$$

綿織物

以下の各実施例 1 ~ 4 において、綿織物に対する各種条件の効果を示す。これらの各実施例で使用した綿織物は、平織りであり、この試験では、100% 綿織

物 (Nisshinbo California Incorporated) を使用した。織物の試料は、各々、切断して $10\text{ cm} \times 14\text{ cm}$ の大きさに解きほぐした。この寸法の織物片の重量は、約 1.5 g であった。その織物は、最小限の澱粉サイズ剤を含有し、ヨウ素と反応させたときヒース色がかった薄い灰色を示した。繊維の表面構造に変化が起こることを避けるため、サイズ剤の除去は行わなかった。諸反応に続いて、綿織物は、 65% の湿度下 70°C で $3 \sim 4$ 日間乾燥した。

実施例 1

この実施例は、従来技術の綿のアルカリ精練法を実証し、この精練法によって、織物に起こる物理的変化について詳細に述べる。 NaOH によって精練すると、かなりの重量減と織物の収縮が起こった。また、精練によって、織物の水接触角と保水性が改善された。

未精練織物の重量は、平均 13.8 mg/cm^2 であり、厚みは、 $320\text{ }\mu\text{m}$ であった。その織物は、経糸方向 1 インチ当たり 69 本の糸および緯糸方向 1 インチ当たり 67 本の糸を含有していた。その未処理綿織物は、疎水性で、水 CA は $93.9^\circ (\pm 3.3^\circ)$ であった。その織物は、 L' 値が 85.1 の淡黄色であった。

その綿織物を、 100°C の 4% の NaOH 溶液で精練し、次にす

すぎ水が中性になるまで熱水ですすいだ。式 1 を用いて、織物の重量変化の百分率を算出した。精練した織物の物理特性を未精練織物のそれらと比較した。アルカリ精練には、 $0.4:1$ (L/g) の液:織物比を使用した。この NaOH による処理は、 2 L の加熱用マントル中で加熱される 2 L のケトル中で行った。処理条件と試験結果を表 4 に示す。

表 4 : 織物と糸の特性に対するアルカリ精練の効果

精練	重量減 (%)	厚み (μm)	織物の打込本数		明度 (L^*)	液体 保持 容量 ($\mu\text{L}/\text{mg}$)	糸の強度 (N/tex)
			経糸	緯糸			
	0.0	320 (9)	68.8 (1.6)	67.2 (0.8)	85.1 (0.1)	1.84 (0.07)	9.7 (1.1)
1 hr	-11.0	450 (28)	74.2 (0.8)	73.2 (1.1)	86.9 (0.2)	2.72 (0.05)	8.3 (0.5)
2 hr	-12.3	424 (12)	73.6 (0.9)	72.0 (0.0)	87.4 (0.3)	2.72 (0.08)	8.9 (0.9)

100℃の4%水酸化ナトリウム溶液で1時間精練すると、織物は、かなり重量が減少し、織物の厚みと打込本数が増大したことにより証されるように収縮した。織物の湿潤性は、精練によって改善された。水接触角(43.1°)と保水性(2.87 $\mu\text{L}/\text{mg}$)は、有意に改善された。また織物は、色が薄くなり、 L^* 値が増大した。精練時間を2時間まで延長したところ、重量減がわずかに高くなったが、織物はそれ以上収縮しなかった。湿潤性と明度は、精練時間を延長すると改善されたが、保水性は、同じままであった。重大なことは、精練によって糸の強度と線密度が低下したことであ

る。

実施例 2

この実施例では、綿織物の特性に対する緩衝剤の効果を詳細に述べる。酵素類の作用を区別するため、緩衝剤だけ(酵素なし)の効果を確認しなければならなかった。綿織物を、3種の緩衝溶液で、それらそれぞれの酵素反応と同じ条件下で処理した。

緩衝液による処理に、0.33:1(L/g)の液:織物比を採用した。それら緩衝液は、pHが10.5の炭酸ナトリウム緩衝液(プロテアーゼ用)、および2種類のリン酸ナトリウム緩衝液、すなわちpHが5(セルラーゼおよびペクチナーゼ用)とpHが8.5(リパーゼ用)の緩衝液であった。一般に、緩衝液は、綿織物の湿潤特性に対して殆どまたは全く効果がなかった。pHが10.5の炭酸ナトリウム緩衝液およびpHが5.0のリン酸ナトリウム緩衝液によって

、綿織物の水湿潤CAは変化しなかった。pHが8.5のリン酸ナトリウム緩衝液によって水CAは83.00まで低下したが、これは依然としてかなり疎水性である。試験結果を表5にまとめて示す。

表5：綿に対する緩衝液の効果

緩衝液	温度 (°C)	重量減 (%)	厚み (μm)	織物の打込本数		明度 (°L)	接触角 (°)	保水性 ($\mu\text{L}/\text{mg}$)	糸の強度 (N/tex)
				経糸	緯糸				
NaPhos pH 5.0	50	-5.7	467 (20)	72.2 (0.4)	71.2 (0.8)	86.7 (0.2)	88.7 (10.9)	0.72 (0.73)	8.5 (1.0)
NaPhos pH 8.5	25	-4.6	454 (37)	72.2 (0.4)	71.2 (0.8)	86.2 (0.1)	83.0 (1.7)	0.81 (0.02)	8.8 (1.0)
NaCarb pH 10.5	45	-0.1	427 (29)	71.6 (0.5)	72.0 (0.0)	86.5 (0.1)	93.9 (1.1)	0.06 (0.03)	7.3 (1.1)

NaPhos＝リン酸ナトリウム、 NaCarb＝炭酸ナトリウム

3種類の各緩衝液のそれぞれによる処理によって、織物の色が薄くなり、織物の厚みと打込本数の増大によって証されるように織物が収縮した。しかし、織物の重量は、これらの緩衝液によって異なる影響を受けた。炭酸ナトリウムの緩衝液は織物の重量を変化させなかったが、リン酸ナトリウムの緩衝液は織物重量を4～6%減少させた。しかし、この重量減は、精練による重量減の約1/2である。炭酸ナトリウムで処理した綿の糸の強度が低下したことを除いて、残りの2種の緩衝液でもたらされた糸の強度は、精練された綿の場合と類似していた。これらの緩衝液による処理で採用された中温と攪拌によって、綿織物の水湿潤性または保水性が実質的に変化することなく、織物の収縮を起こすことが分かった。

したがって、生の綿織物の水湿潤性と保水性に対するこれら緩衝液の効果が小さいので、選択された酵素の効力の評価に対するこれら緩衝液の干渉が最小限になることが実証された。

実施例3

この実施例では、ある範囲の種類の酵素による綿織物の処理について詳細に述

べる。同一の織物片を、ペクチナーゼ、セルラーゼ、プロテアーゼおよびリパーゼを含む4種の異なる酵素で処理した。織物を処理した後、酵素類は不活性化し、次に織物を緩衝液で洗浄して乾燥した。乾燥した織物の重量減、厚み、織物の打込本数、明度、接触度、保水性、線密度および強度を測定することによって特性を決定した。

4種の酵素、すなわちペクチナーゼ、セルラーゼ、プロテアーゼおよびリパーゼ (Genencor International社、米国カリフォルニア州サウスサンフランシスコ所在) を、綿織物の水湿潤性および保水性を改善する際のこれら酵素の効力について試験した。未処理の生綿織物は疎水性であり、水CAが $93.9^{\circ} (\pm 3.30)$ であつ保水性値は $0.15 \mu l / mg (\pm 0.10)$ であつた。この織物は、淡黄色 ($L' = 85.1$) であつた。緩衝剤は、いずれも単独で、織物の色の明度および織物の収縮を増大させるが、生綿織物の水湿潤性および保水性に対して殆どまたは全く影響しない。したがって、これら緩衝液は、酵素の効果の評価に干渉しなかった。

酵素による処理は、全て同じ手順で行い、温度および/または使用する緩衝液だけを変化させた。個々の酵素の有効性を調査するため、各処理を条件を変えて一回行つた。ペクチナーゼ、セルラーゼおよびリパーゼの酵素に対しては、リン酸ナトリウムの緩衝液を用い、プロテアーゼの酵素に対しては、炭酸ナトリウムの緩衝液を用いた (表6)。ペクチナーゼはアスペルギルスニガー (*Aspergillus niger*) 由来のものであり、セルラーゼはトリコデルマ由来のものであり、プロテアーゼはバシラス属の種の細菌由来のもの (サブ

チリシンのタイプ) であり、リパーゼはシュードモナスメンドシナ (*Pseudomonas mendocina*) 由来のものであつた。

緩衝溶液を一定温度にしてから、その溶液に酵素を添加した。酵素と緩衝液による処理は1時間続け、全反応期間を通してミキサーで均一性を保持した。各反応を終わった時点で、試料をすすぎ緩衝液中に2分間浸漬した。酵素は、すすぎ緩衝液のpHによって不活性化された。その織物片を、次いで3分間遠心分離した (International Clinical Centrifuge)。室温水浴による2分間のすすぎに

続く3分間の遠心分離処理を5回行うことによって、すすぎの工程を完了した。
その試料を、次いで65%の相対湿度下70°Fで乾燥した。乾燥中の織物の重量は、重量の変化が認められなくなるまで、24時間ごとに各試料の重量を測定することによって監視した。この最終重量 (W_1) は、3~4日で得られ、次にそれを使用し、式1に従って重量の変化を算出した。

表6：酵素反応の条件

酵 素	pH	温度(°C)	酵素の濃度(g/L)	反応緩衝液	すすぎ緩衝液 (pH)
ペクチナーゼ	5.0	50	1	100 mM NaPhos.	10 mM NaPhos. (8.0)
セルラーゼ	5.0	50	5.0	100 mM NaPhos.	10 mM NaPhos. (8.0)
プロテアーゼ	10.5	45	0.5	50 mM NaCarb	10 mM NaPhos. (5.0)
リパーゼ	8.5	25	0.6	100 mM NaPhos.	10 mM NaPhos. (5.0)

1 ペクチナーゼは、未測定量のセルラーゼを含有している。

綿織物に対する酵素の効果を試験する場合は、全て、酵素を添加せずに対応する緩衝溶液で処理したその織物見本と比較した。リバ

ーゼによる処理は、綿織物の水湿润性と保水性、または物理特性に対しても全く効果がなかった(表7)。このリパーゼは、採用された条件下では、綿の湿润特性を改善する効力がなかった。したがって、それ以上、このリパーゼを用いての試験は行わなかった。

また、上記プロテアーゼによる処理によっても、織物の湿润特性や、如何なる織物の特性すなわち厚み、織物の打込本数および明度も変化しなかった(表7)。興味深いことに、このプロテアーゼで処理された綿織物は、保水性値が著しく改善されて1.11 μ l/mgであった。このプロテアーゼによる処理によって、強度は殆ど失われなかった。

表7：綿に対するリパーゼとプロテアーゼの効果

酵素 (g/L)	重量減 (%)	厚み (μm)	織物の打込本数		明度 (°L)	接触角 (°)	線密度 (tex)	保水性 ($\mu\text{L}/\text{mg}$)	糸の強度 (N/tex)
			経糸	緯糸					
(0.12)	-4.7	495 (27)	72.8 (0.4)	70.6 (0.5)	86.0 (0.3)	88.7 (1.3)	18.3 (0.1)	0.88 (0.0)	9.5 (1.1)
(0.60)	-6.0	458 (41)	72.0 (0.9)	71.6 (0.7)	86.1 (0.1)	84.8 (2.8)	18.8 (0.1)	0.95 (0.04)	9.1 (1.6)
	-6.4	422 (23)	71.8 (0.4)	71.0 (0.7)	86.4 (0.2)	89.0 (1.2)	18.7 (0.1)	1.11 (0.09)	8.1 (1.0)

表 8 : 綿に対するペクチナーゼとセルラーゼの効果

酵素 (g/L)	厚み (μm)	織物の打込本数		明度 (°L)	糸の強度 (N/tex)
		経糸	緯糸		
ペクチナーゼ	477 (37)	72.4 (0.5)	72.0 (0.0)	86.0 (0.3)	6.6 (1.2)
セルラーゼ	456 (33)	71.8 (0.4)	71.6 (0.9)	87.2 (0.1)	6.4 (1.2)
ペクチナーゼ+ セルラーゼ	450 (25)	71.6 (0.5)	72.0 (2.0)	86.3 (0.2)	5.8 (1.2)

ペクチナーゼは、前記リパーゼと同様に、水 C A、保水性、または他の織物の特性、すなわち、厚み、打込本数および明度に全く効果を示さなかった（表 8 および図 2）。このペクチナーゼの処理では、最小限の重量減が観察された。上記セルラーゼは、単独で生の綿に加えたとき、水湿潤性（C A）と保水性に検出可能な改善をもたらした唯一の酵素であった（図 2 a、2 b）。セルラーゼによる処理で織物が収縮する徴候は全くなかったが、織物の重量減（図 2 c）と明度（表 8）は僅かに増大した。セルラーゼは、セルロースに接近して、織物表面から、疎水性の非セルロース成分を除去できるようであった。

湿潤性の最も有意な改善は、単一の処理にペクチナーゼとセルラーゼを組み合わせたときに起こった（表 8 と図 2）。水 C A と保水性値は、商業的に精練された織物について先に観察された範囲内に入っている（図 2 a、2 b）。重量減（図 2 c）は、セルラーゼ単独の場合より小さく、そして厚み、打込本数および明

度は、湿潤性が改善されているにもかかわらず、変化しなかった。ペクチナーゼによる処理は、糸の強度をわずかに低下させたただけであったが、一

方、セルラーゼは、糸の強度を有意に低下させた。ペクチナーゼとセルラーゼを混合して行った処理によって、糸の強度は、セルラーゼで処理した試料よりさらに低下した。

混合して処理した場合のセルラーゼとペクチナーゼの相乗作用によって、綿織物の湿潤特性の改善に成功したのである。セルラーゼは、可能な場合に、セルロースを加水分解して、ペクチナーゼがペクチン物質に近づき易くすることによって、ペクチナーゼの作用を明らかに助けている。ペクチンへの接近は、繊維表面の非セルロース成分を支持しているセルロースを切断することによって達成することができる。したがって、セルラーゼとペクチナーゼの相乗作用は、全部とはいわないでも、いくらかのペクチンが、二次細胞壁の近くに位置していることを示唆しているようである。これが真実であれば、ペクチン類を除けば、繊維の表面に存在している他の非セルロース成分が放出される筈である。

この実施例は、リパーゼ類とペクチナーゼ類が綿織物の湿潤性および他の特性に殆ど効果がないことを示している。対照的に、セルラーゼで処理すると、綿織物の水湿潤性と保水性がともに改善された。興味深いことであるが、綿織物の物理特性の最も大きな変化は、セルラーゼとペクチナーゼの混合物による処理でもたらされたのである。

実施例 4

この実施例は、綿を沸騰水で処理した場合、および沸騰水で処理し続いて酵素で処理した場合の効果を示す。

4. 1 沸騰水

100℃の水中に2分間ずつ3回浸漬したところ、綿織物の水C

Aは16°低下し、保水値は1.05 μ l/mgまで増大した(図3a、3b)。両方の値の標準偏差が大きいことは、作用を受けた繊維の表面の水湿潤性が著しく不均一であったことを示している。綿織物を100℃の水で前処理すると(

表9)、糸の強度と織物の明度に対して、精練によって生じた効果(表5)と類似の効果があった。この短時間100℃の水で前処理した織物は、前記の精練を行った織物より、重量減が少なくかつ織物の厚みの増大が大きかった。したがって、精練は、100℃の水中に2分間ずつ3回浸漬した場合より大きい重量減と平面方向の収縮を起こした。

表9：100℃の水で前処理した綿に対する酵素の効果

酵 素	重量減 (%)	厚 み (μm)	織物の打込本数		明 度 ($^{\circ}\text{L}$)	線密度 (tex)	糸の強度 (N/tex)
			経 糸	緯 糸			
な し	-5.5	495 (28)	72.0 (0.7)	71.2 (0.4)	86.5 (0.8)	19.1 (0.1)	8.4 (1.0)
プロテアーゼ	-11.9	463 (10)	72.8 (1.1)	72.6 (0.9)	86.6 (0.2)	19.0 (0.0)	7.6 (0.9)
ペクチナーゼ	-8.4	481 (1)	72.0 (0.4)	72.2 (0.4)	86.2 (0.2)	19.9 (0.1)	6.2 (0.9)
セルラーゼ	-9.8	464 (21)	73.2 (0.4)	71.4 (0.4)	86.9 (0.2)	20.2 (0.1)	5.9 (0.8)
ペクチナーゼ+ セルラーゼ	-14.6	426 (21)	72.0 (0.0)	71.4 (0.5)	86.6 (0.1)	19.5 (0.1)	5.2 (1.0)

4. 2 沸騰水による処理に続いて行う酵素による処理

100℃の水による前処理に続くペクチナーゼ処理およびセルラーゼ処理は、これらの酵素を生糸の綿織物に直接適用した場合より、綿織物の湿潤特性が改善された(図3a)。この前処理は、混合し

たペクチナーゼとセルラーゼの処理にたいして、追加の利点を与えなかった。すなわち、その織物CAは、すでに、商業ベースで精練された綿織物に匹敵する値の範囲内に入っていた。また、この前処理は、プロテアーゼの効果も促進しなかった。すなわち、プロテアーゼだけで処理された織物と比べた場合、水湿潤性(83.2 \pm 14.1)と保水性(1.32 $\mu\text{l}/\text{mg}$ \pm 1.09)にそれ以上の改善は認められなかった。

100℃の水による前処理は、ペクチナーゼおよびセルラーゼの酵素の効力を

高めた。上記前処理を行った織物の湿潤CAは、対応する酵素単独で処理した織物より低かった（図3a）。この前処理は、セルラーゼより、ペクチナーゼの効果を一層高めた。これらの2種の酵素は、生の織物に、個々に適用すると、かなり異なる湿潤特性をもたらした。しかし、前処理された綿織物にこれら酵素を適用すると、同じ湿潤特性をもたらした。100℃の水による前処理に続いてペクチナーゼかセルロースのいずれかで処理した綿織物は、ペクチナーゼとセルラーゼを混合した場合とよく似た挙動をする。これら3種の酵素反応によって、商業ペースで精練された綿織物に共通の値の範囲内にある水CA値と保水値を有する綿織物が生成した。前処理を行いセルラーゼで処理した織物の水湿潤性と保水性のデータは、標準偏差が小さく、効果が一層均一であることを示している。ペクチナーゼまたはセルラーゼのいずれかにとって、綿の中のペクチン類やセルロースへの接近は、表面のワックスと脂質類が融解して、そしてこれらの物質を繊維表面上に再分布させるかまたは100℃の水中に分散させることによって、促進された。

100℃の水による前処理とペクチナーゼを組み合わせた場合、最高の有望性を示したので、ペクチナーゼによる処理の時間の効果

を評価した。処理時間を30分間まで短くしたとき、水CAは、1時間処理した場合より24°高くなり、保水性は、約 $2\mu\text{l}/\text{mg}$ 低下した（図4）。水CAの標準偏差が高かったが、これは織物表面の活性が不均一なことを示している。処理時間をさらに10分間まで短くすると、ペクチナーゼは効力がなくなった。アルカリ精練を行った綿と類似の湿潤特性を生じさせるためには、このペクチナーゼとの反応は、試験を行った条件下で、30分間を越える必要があった。

まとめると、100℃の水で前処理を行うと、綿織物に対するペクチナーゼとセルラーゼの個々の反応の効果を増大させたが、ペクチナーゼとセルラーゼを混合して行った処理の効果は増大させなかった。綿織物の強度の低下が最小で、水湿潤性と保水性が最高に改善されたのは、水による前処理をペクチナーゼの反応と組み合わせた場合であった。この試験で評価した酵素の中で、前処理を組み合わせたペクチナーゼが、アルカリ精練の代替法として最高の有望性を示した。綿

繊維の非セルロース成分を加水分解して除くために酵素を使用することは、現行のアルカリ精練法を越える多くの潜在的利点を提供する。酵素反応は、反応条件、例えば pH、時間および温度の範囲がより広いので、布地処理において適応性が広がる。有効な酵素反応を行うための温度は、アルカリ精練に用いられる温度よりはるかに低いので、エネルギー消費の点で著しく有利である。

ポリエステル織物

下記の実施例 5 ～ 10 は、ある範囲のポリエステル織物に対するこの発明の方法の使用について説明する。この試験では、4 種のポリエステル織物を使用した。ホモポリマーのポリ（エチレンテレフ

タレート）（PET）（ダクロン 54、du Pont de Nemours & Co.）を、リパーゼ類の評価と反応条件の最適化を行うために使用した。使用した残りの 3 種のポリエステルは、スルホン化 PET（SPET、ダクロン 64）と熱セットされたスルホン化 PET（du Pont de Nemours & Co.）およびマイクロデニール PET（Micromattique（登録商標）、du Pont de Nemours & Co.）であった。SPET は、ベンゼン環に低含有量（2 ～ 3 %）のスルホネート基を含有するコポリマーである。スルホン化ポリ（エチレンテレフタレート）（SPET）繊維の微細構造と巨視的構造は試験されている。Timm, D.A. 他、Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics Edition、31 巻：1873 ～ 1883 頁（1993 年）。これらポリエステル織物は、すべて平織り構造のものであった。上記 PET と SPET の織物は、ステーブルヤーンからなり、そしてマイクロデニール PET 織物は、Micromattique（登録商標）ポリエステルフィラメントで構成されていた。未処理ポリエステル織物の特性を表 10 に示す。

表 10：ポリエステル織物の特性

測定したパラメータ	PET Dacron 54	SPET Dacron 64	熱セー SPET	マイクロデニール PET
織物の重量 mg/cm ²	11.60	16.69	16.60	6.5
厚み cm	0.0297	0.0431	0.0448	0.0164
織物の打込本数、糸数/インチ	78 x 70	48 x 42	48 x 42	115 x 104
かさ密度 g/cc	0.3903	0.3872	0.3703	0.3974
繊維密度 g/cc	1.3841	1.38	1.38	1.3942
多孔度 (%)	0.718	0.719	0.732	0.715
C ₁ , μl/mg	1.84	1.85	1.98	1.80
C ₂ , μl/mg	1.88	1.49	1.27	1.70
C ₃ , μl/mg	1.32	1.45	1.27	1.70

重量変化の%、織物の厚み、水接触角、保水性および液体保持容量を含む物理特性を、前記の方法と式を用いて算出した。追加のパラメータを下記に詳述するようにして求めた。

繊維密度は、21℃で、CCl₄とn-ヘプタンを充填した密度勾配カラムで測定した。Timm, D. A. 他、Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics Edition、31巻：1873～1883頁（1993年）。繊維の半径は、校正されたマイクロメータを備えた顕微鏡を用いて測定した。織物の重量、打込本数および厚みは、標準の方法（ASTM 1910）を用いて測定した。

5種のリパーゼを使用した（表11）。リパーゼA、B、CおよびDは、市販品（ICN社およびSigma社）であった。リパーゼEは、ピーエス メンドシナ（Ps. mendocina）から分離したものであり、Genencor International社から入手した。PET織物に対する酵素の反応は、緩衝剤水溶液中で実施した。2種類の緩衝剤、すな

わち有機のトリス（ヒドロキシメチル）アミノメタンおよび無機のリン酸ナトリウムを頭初に試験した。前記無機のリン酸塩緩衝剤を選択して、この試験全体を通じて使用した。

各織物の試料を切断し、ほぐして10cm×14cmの大きさにした。この寸

法の織物の重量は、約 1 g であった。酵素と緩衝剤で処理するのに、0.33 : 1 (L / g) の液 : 織物比を採用した。これらの織物に対する加水分解の効果を、加水分解の条件すなわち、濃度、pH、温度および反応時間の長さを変えることによって試験した。酵素の活性の停止は、酵素が不活性になる pH 値の緩衝液中で織物をすすぐことによって行った。次いで、全ての織物を、水ですすぎ、減圧下 60℃ で 12 時間乾燥し、次に 21℃ および 60% 相対湿度で 24 時間保管してから、さらに特性を測定した。

表 11 : リパーゼ類とその特性

リパーゼ	メーカー	起 源	形 態	活 性 (mg ⁻¹ 固体)
A	ICN	ブタの脾臓	粉末	30.8 単位 ^a
B	ICN	ブタの脾臓	粉末	16 単位 ^a
C	Sigma	コムギの麦芽	粉末	7.6 単位 ^b
D	Sigma	カンジダ シンドラ	粉末	250,000 単位 ^c
E	Genencor International	ヒト エステラゼ	液体	—

a. 1 単位が、基質としてオリーブ油エマルジョンを用いて、1 時間当たり (pH 7.8、37℃) 100 μmol の脂肪酸を放出する。

b. 1 単位が、トリアセチン由来の脂肪酸 1.0 マイクロ当量を、1 時間で (pH 7.4、37℃) 加水分解する。

c. 1 単位が、オリーブ油由来の脂肪酸 1.0 マイクロ当量を、1 時間で (pH 7.2、37℃) 加水分解する。

実施例 5

この実施例は、トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタンとリン酸ナトリウムを含む緩衝剤の水溶液の、PET による吸収について例示する。また、変性した、したがって不活性のリパーゼの、PET 織物に対する結合を調べた。その試験結果を図 5 にまとめてある。

未処理PETの水湿潤接触角と保水値は、 75.8° ($\pm 0.5^{\circ}$) であった。未処理PETの水保持容量と液体保持容量は、それぞれ 0.229 (± 0.06) $\mu\text{l}/\text{mg}$ と 1.219 $\mu\text{l}/\text{mg}$ であった。このことは、未処理ポリエステル織物の液体保持容量の約19%を水が占めていることを示している。緩衝剤単独（一方は有機緩衝剤で、他方は無機緩衝液である）の効果をまず試験した。PETの織物を、 35°C の個々の緩衝液に1時間浸漬した。有機緩衝剤のトリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン（ 100mM ）は、ポリエステル織物の湿潤接触角を 67.5° ($\pm 1.5^{\circ}$) まで低下させた。無機緩衝剤のリン酸ナトリウム（ 100mM ）は、湿潤接触角を 81.9° ($\pm 1.4^{\circ}$) まで増大させた。この無機緩衝剤の、ポリエステル織物の湿潤接触角に対する逆効果は、酵素の効果に干渉しないと考えられた。したがって、この試験では、この無機リン酸塩緩衝剤を全てのリパーゼに対して使用した。

また、ポリエステル織物は、リン酸ナトリウム緩衝液に変性リパーゼを溶解して得た溶液（ $0.6\text{g}/\text{L}$ ）にも暴露させた。水接触角が増大して、前記溶液から織物の表面に、疎水性物質すなわちタンパク質および／または他の化合物が吸着した可能性があることを

示した。無機緩衝剤と同様に、変性タンパク質への暴露の湿潤性に対する効果は、逆の効果であった。したがって、起こり得るタンパク質の吸着は、リパーゼの見掛けの加水分解効果を妨害するだけで促進しないので、表面湿潤性が改善されるのは、リパーゼの加水分解作用に起因している筈である。

実施例 6

実施例 6 は、PET織物とリパーゼの初期反応について詳細に述べる。リパーゼEを使用する反応は、最適化されておらず、このリパーゼがPET織物の特性を変化させる可能性だけを調べるものである。

PET織物をリパーゼEで処理（ $0.6\text{g}/\text{L}$ 、 35°C 、1時間）したところ、水湿潤性と保水性が著しく改善され、PET織物の強度に対する逆効果はなかった。水湿潤性接触角は 57.4° ($\pm 2.3^{\circ}$) まで低下し、保水性は 1.06 (± 0.05) $\mu\text{l}/\text{g}$ まで増加した。未処理のPET織物の糸は、破断強度

が 3.17 g/d (± 0.93) で、破断歪が 24.6% (± 3.2) である。
リパーゼ E で処理した PET 織物の糸の破断強度と破断歪は、それぞれ 3.10 g/d (± 0.92) と 27.0% (± 3.0) であり、有意でない差である。

リパーゼの反応は、アルカリ水溶液による加水分解反応よりばらつきの少ない優れた湿潤性表面を生成した。最適条件下 (3 N NaOH 、 55°C で 2 時間) での PET 織物のアルカリによる加水分解は、 65.00 ($\pm 8.0^\circ$) の水接触角と 0.32 (± 0.01) $\mu\text{l/g}$ の保水値を生じた。水酸化ナトリウムで加水分解された織物の PET 糸は、破断強度が低下して 2.78 g/d ($\pm 5.$

29) になり、破断歪は大きく増大して 42.5% (± 1.8) になった。

リン酸ナトリウム緩衝液中でリパーゼ E と反応させたポリエステル織物は、明瞭に改善された湿潤性を示した。リパーゼ E は、アルカリ加水分解反応より、ポリエステル織物の水湿潤性と吸着性を改善した。その酵素反応もより短時間になった。アルカリ加水分解反応によって強度が低下しかつ重量が減少するのと対照的に、上記水湿潤性の改善に付随して強度が十分に保持された。

実施例 7

この実施例では、PET 織物とリパーゼ E との反応を最適化する手順を詳細に述べる。PET 織物の試料を、同一濃度のリパーゼ E の溶液で、時間を変えて処理した。反応後、処理された織物の特性を測定した。最適反応時間が決定したのち、酵素の濃度を変化させた。このようにして、リパーゼ E について、最適の反応時間と酵素の濃度を決定した。その結果を、図 6 と表 12 にまとめている。

PET の織物を、 0.12 g/L の濃度のリパーゼ E で、 35°C で 10 分間、30 分間および 60 分間処理した。わずか 10 分間の反応後に、水接触角は激しく低下し、かつ保水性は 4 倍以上にも増大した (表 12)。反応時間を延ばしても、それ以上の改善はなされなかった。反応時間を延ばすと、重量減、厚みの減少、多孔度および液体保持容量がわずかに増大するようであった。しかし、これらの変化は非常に小さかった。

表 12 : リパーゼ E で処理された PET 織物の湿潤特性と吸着特性

に対する反応時間の効果

時間 (min)	Δ重量 (%)	厚み (μm)	多孔度	水接触角 (°)	水 (μl/mg)	液体保持 容量 (μl/mg)	水/容量
0	0	332.7 (±27.3)	0.727	75.8	0.229	1.22	0.188
10	0.29	337.3 (±12.4)	0.732	52.3	0.980	1.39	0.683
30	0.40	326.1 (±12.2)	0.723	56.8	0.891	1.44	0.621
60	0.45	317.5 (±9.1)	0.715	51.9	0.944	1.43	0.651

リパーゼEの濃度は、0.12 g/Lであった。

一定の反応時間10分間の時点で、酵素の濃度を増大したところ、水湿潤性と保水性がさらに向上した(図6a、6b)。水湿潤性と保水性の改善は、25℃の場合より35℃の方がわずかに高かった。0.03 g/Lの濃度のリパーゼEで35℃で10分間、レギュラーポリエステルの織物を処理することによって、58.3°の水接触角と0.90 μl/mgの吸水性を得ることができる。アルカリ加水分解法と比べて、このリパーゼによる処理によって、はるかに低い温度で一層顕著な湿潤性の改善がなされた。前記両方の反応温度で処理した織物の水/溶液比と水接触角は、同じ直線関係になっている(図6c)。これらの反応は織物の重量の有意な変化を起こさなかったため、多孔度の変化は全くなかったと考えられた。これらの観察結果によって、類似の孔構造と全多孔度を有する織物の

保水性は、その固体媒体の水湿潤性に高度に依存していることが再確認された。

実施例8

この実施例は、ミクロデニールのPETを、実施例7で決定した最適条件下で、リパーゼEで処理した結果を説明する。リパーゼで処理することによって、微

小デニールの織物の湿潤性およびその他の特性に大きな変化が観察された。

マイクロデニールの織物をリパーゼEで処理した(0.03 g/L、35℃、10分間)。水接触角が35.9°(±4)まで低下し、そして吸水性が1.26 μl/mg(±0.02)まで増大した。同じ条件下で処理した前記PET織物(水接触角が58.3°で、吸水性が0.90 μl/mg)に比べて、マイクロデニール織物の水湿潤性と吸水性の改善は、はるかに大きかった。このことは、そのマイクロデニール織物に対するアルカリ溶液による加水分解反応の優先的な効果に対応している。アルカリ加水分解法と酵素加水分解法はともに、マイクロデニールPETの織物の水湿潤性の挙動に、そのPET対応品よりも一層有意な改善をもたらした。

このように、リパーゼによる処理は、マイクロデニールのポリエステル織物の湿潤特性を変えるのに特に有効である。

実施例9

実施例9は、PET織物に対する各種の市販リパーゼ類(表11のリパーゼA、B、C、D)の効果を示す。最初の試験で、これらリパーゼ類の中で最も有効であるとして、リパーゼAが選ばれた。したがって、続く実験では、リパーゼAの濃度を変えて、PET織

物の特性を変化させることにおけるリパーゼAの効力が、濃度に依存している程度を評価した。

4種の市販リパーゼを用いてPET織物を処理した。これらのリパーゼは、粉末の形態で入手した。0.125 g/Lの濃度の溶液を用いた。全ての処理を、pHが8.5のリン酸緩衝液を用いて、35℃の温度で10分間ずつ行った。ポリエステルの湿潤特性を改善する効力の順位は、A>B>Cであり、リパーゼAとBの両者は、リパーゼEより有効であった(図7)。

異なる濃度のリパーゼAを評価した(35℃、10分間)。濃度が高くなると、水の湿潤接触角が小さくなり、保水性が増大した(図8a)。1 g/Lで、反応温度を25℃~45℃の間で変化させた。温度を25℃と35℃の間で上昇させると、水湿潤接触角が小さくなり、そして保水性が増大した(図8b)。40

℃および45℃という高温では、リパーゼAの効果は、約30℃の場合と類似のレベルまで低下する。アルカリ加水分解法と比べて($CA = 65.0^\circ \pm 8.0^\circ$)、類似のしかもばらつきが一層小さい水湿潤特性($CA = 67.6^\circ \pm 0.3^\circ$)が、非常に低い濃度(0.01 g/L)のリパーゼAで得られた。より高い濃度の0.1 g/Lでは、 54.9° という一層優れた水接触角になった。

1 g/Lの濃度のリパーゼAと35℃で10分間反応させたところ、小さい水接触角 38.4° ($\pm 3.1^\circ$)と高い保水値1.06 ml/gが得られた。このような小さい湿潤接触角は、加水分解されたPET表面では報告されたことがない。このレベルの湿潤性は、約1/3の濃度で処理されたマイクロデニールの織物で得た湿潤性に類似していた。これらの試験結果は、前記表面効果が、表面積と活性薬剤の量に比例していたことを示唆している。表面を改質す

る場合、獲得した湿潤性の持続性が非常に重要である。同じPET織物の水接触角と保水性を反応の84日後に測定したところ、それぞれ 45.0° ($\pm 0.4^\circ$)と $0.98 \mu\text{l}/\text{mg}$ (± 0.06)であった。水接触角は僅かに増大したが、表面の湿潤性と保水性は、アルカリ水溶液による加水分解反応で加水分解されたPETの表面より、依然としてはるかに優れている。

また、リパーゼAを、何ら緩衝剤なし($\text{pH} = 7.0$)である範囲の水中濃度で、PET織物に適用した。リパーゼの濃度が増大するにつれて、水の接触角が小さくなり、そして保水性が増大した(図9)。25℃では、湿潤接触角の改善は、濃度範囲の低い端の方が、実際に僅かに大きかった。この傾向は、35℃で、濃度が0.25 g/Lを越えると、逆になった。水中での反応は、効力が僅かに小さかったが、緩衝溶液中での反応と同じ一般的傾向を示した。同等の酵素の濃度で、水中で処理した織物の接触角は、緩衝液中で処理した織物よりも5~10度高かった。リパーゼAで処理したPET織物(1 g/L、35℃、水)の水接触角は、反応の直後、1、2および3か月後において、それぞれ 43.2° 、 44.3° 、 45.9° 、 $45.1''$ であった。処理された表面は、少なくとも3か月間、獲得した湿潤性を維持した。

リパーゼAの最適反応条件(1 g/L、35℃)を、残りの3種のポリエステ

ル織物を処理するのに採用した(表13)。保水性はもちろん湿潤接触角の改善が、4種のポリエステル織物の全てについて明らかに認められた。未処理のスルホン化PETと、未処理の熱セットスルホン化PETの水接触角は、60台の下～中程の値の角度であった。これらの接触角は、レギュラーポリエステルおよびマイクロデニールポリエステルの織物より低かった。この現象は、た

とえSPET芳香リングの2～3%しかスルホン化されていなくても、スルホネート基($-\text{SO}_3\text{Na}^+$)の極性が原因のようであった。PETおよびスルホン化PETの織物の場合、湿潤性の改善は、反応をpHが8.0の緩衝液中で実施したとき、僅かに優れていた(図10)。熱セットSPETとマイクロデニールPET織物については、反応を緩衝液中で行っても緩衝剤なしで行っても、差は全く認められなかった。緩衝液中で処理されたそれらポリエステル織物の水接触角は、 $38.4^\circ \sim 49.6^\circ$ の範囲内にあり、一方、水中で処理されたそれらポリエステル織物の水接触角は、 $45.2^\circ \sim 49.4^\circ$ であった。

表13：ポリエステル織物に対するリパーゼA(1g/L、

pH=8、35℃、10分間)の効果

ポリエステル	水接触角 (度)	水 ($\mu\text{l}/\text{mg}$)	液体保持 容量, $\mu\text{l}/\text{mg}$	水/容量
ダクロン 54 未処理	75.8 (0.5)	0.23 (0.06)	1.32 (0.01)	0.17
リパーゼ A	38.4 (2.5)	1.06 (0.01)	1.43 (0.07)	0.74
ダクロン 64 未処理	63.9 (5.8)	0.78 (0.10)	1.45 (0.04)	0.54
リパーゼ A	42.9 (4.1)	1.20 (0.05)	1.41 (0.04)	0.85
熱セツトダクロン64 未処理	61.0 (3.4)	0.43 (0.04)	0.82 (0.03)	0.53
リパーゼ A	44.9 (3.0)	0.60 (0.01)	0.85 (0.01)	0.71
マイクロニールPET 未処理	75.5 (11.8)	0.26 (0.10)	1.40 (0.02)	0.18
リパーゼ A	49.6 (4.1)	1.10 (0.08)	1.37 (0.04)	0.80

実施例 10

この実施例では、酵素で処理された一連のポリエステル織物の保水性と水接触角の関係を調べた。

リパーゼ E で加水分解されたレギュラー PET 織物とリパーゼ A で処理された 3 種のポリエステル織物の両者について、保水性すな

わち吸収性は、表面の湿潤性と正の関係にあり、すなわち水の接触角と負の関係にある（図 11）。反応時間と温度を変えて水酸化ナトリウム水溶液で加水分解された PET および mPET の織物について、これら二つのパラメータ間の類似の関係は公知であった。アルカリで加水分解された PET と mPET についてすでに報告されているこれらの水湿潤性と保水性のデータを、組み合わせて、図 7

に示した。アルカリ加水分解を行うと織物の重量が減少し、したがって、その織物の細孔構造を有意に変化させることが、報告されている。これに反して、酵素反応は、平均して僅か0.13%の重量減しか起こさなかった。したがって、酵素で処理された織物は、その未処理の対応品と殆ど変わらない細孔構造を有していたのである。リパーゼで処理されたポリエステル織物の場合、類似の吸水性・湿潤性の関係が、ほとんど同じ細孔構造をもった織物（リパーゼEで処理されたPET（■））の間に、およびかなり異なった細孔構造を有する織物（リパーゼAで処理したPET、SPETおよびmPET（□））の間に見出された。

実施例 11

この実施例は、ポリエステル織物片へのリパーゼの結合度を測定する方法を示す。そのプロトコルは、起源が異なるリパーゼのポリエステル基質に対する親和力を評価するために設計した。手短に述べれば、リパーゼはポリエステル基質に結合させることができた。そのポリエステル-リパーゼ構造を、次に発色基質、例えば酪酸p-ニトロフェニルなどの溶液と反応させ、次いでその溶液の410nmの吸光度を測定した。410nmの吸光度の強度がポリエステル基質に結合したリパーゼの量に比例すると推定した。

酵素の水溶液（0.5 μ g/mL、ビーエス・メンドシナ由来のリパーゼ）を調製した。市販のポリエステル織物（1" × 1"）の試料を、酵素溶液中に1分間浸漬した。その織物試料を酵素溶液から取り出して、3分間風乾した。次に、その織物試料を、酪酸p-ニトロフェニル（トリス緩衝液中1mM、pH7）が入っている50mLビーカーに移した。この溶液1mLずつを、1分ごとに、5分間取り出して、1mLずつの各試料の410nmの吸光度を測定した。このようにして、ポリエステルに結合した酵素と酪酸p-ニトロフェニルの反応速度を測定した（図12）。

上記実施例に、ポリエステル織物に対する酵素の親和力を測定できる検定法が述べられている。この検定法によるデータを使用して、選ばれた織物に適切な結合特性を有する酵素を選択するのに役に立てることができる。上記検定法は、各溶液は異なる酵素を含有している多数の溶液に広げることができることは、当業

技術者にとって明らかであろう。酵素溶液を、発色基質（例えば、酪酸 p-ニトロフェニル）に対して等しい活性に正規化することによって、ポリエステル織物に結合する酵素の程度が上記のように評価されるであろう。

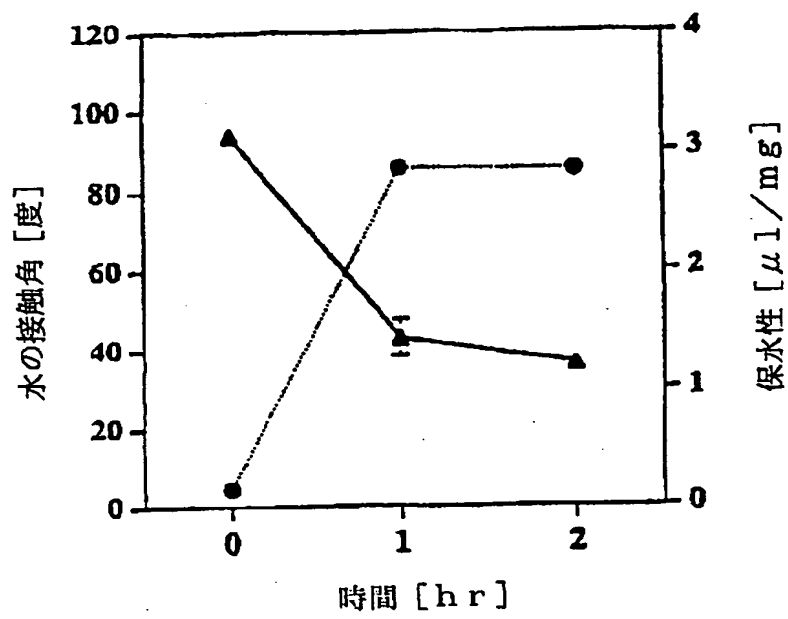
まとめると、いく種類かの酵素が、綿繊維の湿潤性と保水性を改善する効果を有している。最大の改善は、セルラーゼとベクチナーゼを混合した場合に観察された。さらに、いくつかのポリエステル織物の親水性を改善する加水分解酵素の作用を試験した。試験を行った5種類のリパーゼ中の4種類が、レギュラーポリエステル織物の水湿潤性と吸水性を改善する。酵素を利用した加水分解反応によって、アルカリ加水分解法よりも、PET織物の水湿潤性と保水性が、さらに一層、有意に改善された。例えば、10分間の反応（1

g/L、pH 8.0、35℃）で、レギュラーPETの水湿潤接触角が75.8°から38.4°（±2.5）まで小さくなり、そして保水性が0.22 μl/mgから1.06 μl/mgまで増大する。PET織物の、最適条件（3NのNaOHで55℃、2時間）下でのアルカリ加水分解によって、65.0°（±8.0）の水接触角と0.32（±0.01）μl/mgの保水値が達成された。反応条件は、2種類のリパーゼAとEについて最適化した。その酵素反応は、周囲温度（25℃）下、緩衝剤を使用することなく、反応時間が比較的短い（10分間）という一層穏やかな条件下で有効であることが分かったのである。水湿潤性が改善されるとともに、アルカリ加水分解法によって糸の強度が低下しかつ重量が減少するのと比べて、強度が完全に保持されたのである。また、リパーゼEは、スルホン化ポリエステルとマイクロデニールポリエステルの織物の湿潤性と吸収性を改善するのに有効であった。

上記のことは主に例示を目的として提供するものである。この明細書に記載の系の実施条件、材料、手順のステップおよび他の諸パラメータが、この発明の精神と範囲から逸脱することなく、様々な具合に、さらに改変または置換できることは、当業技術者にとって容易に分かることであろう。

【 図 1 】

図 1



【 図 2 】

図 2a

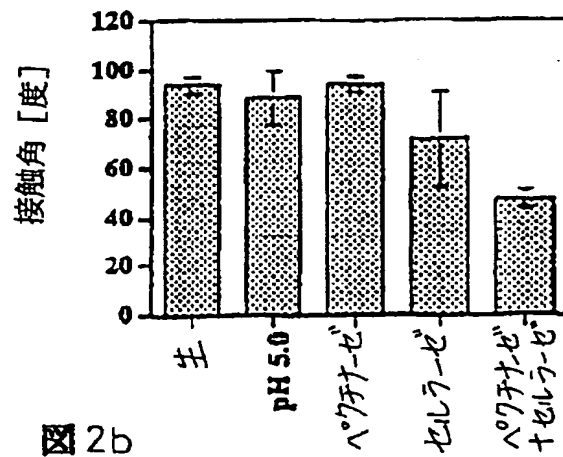


図 2b

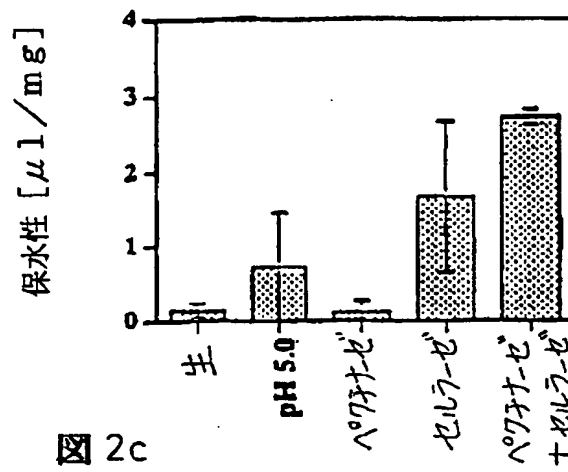
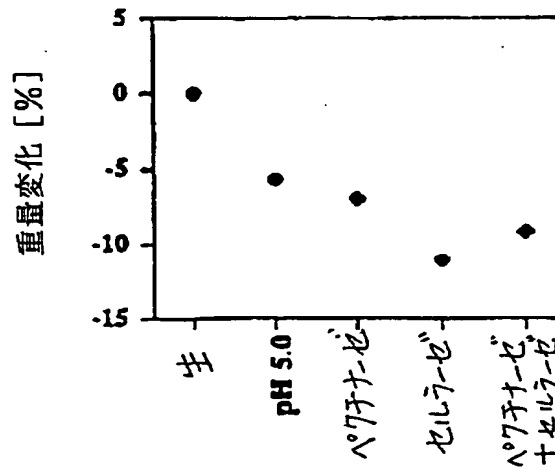
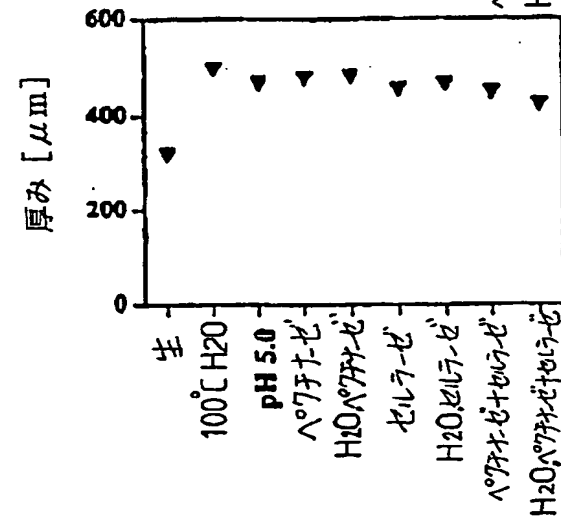
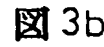


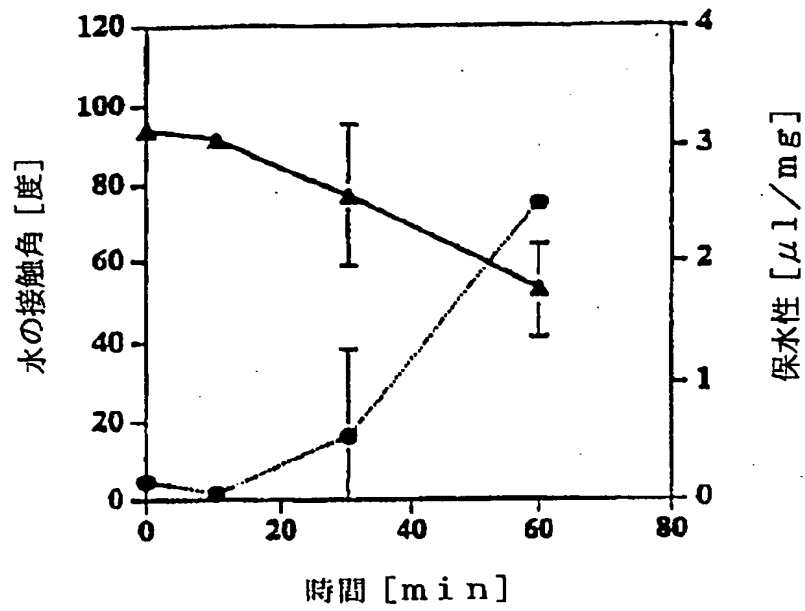
図 2c





【図4】

図 4



【 図 5 】

図 5a

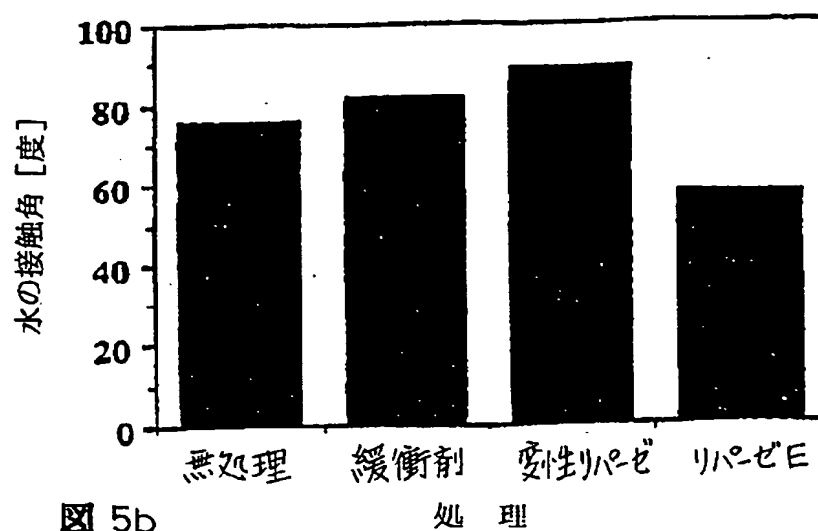
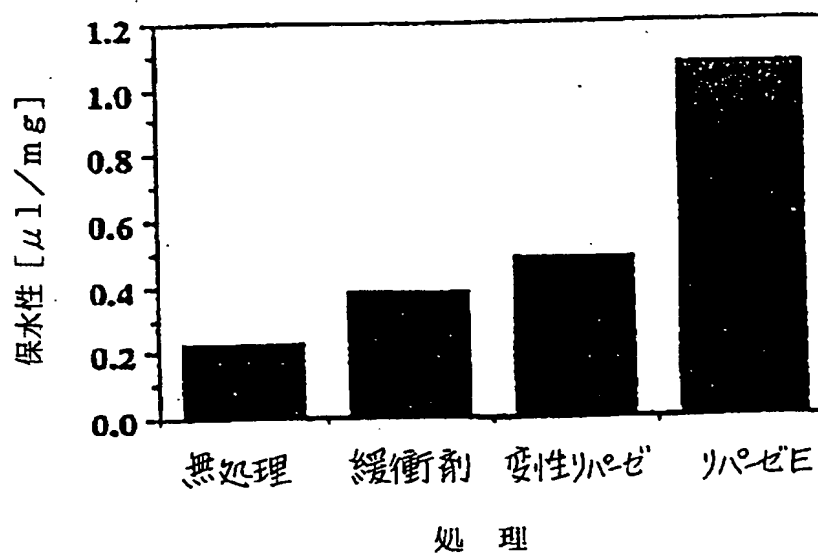


図 5b



【 図 6 】

図 6a

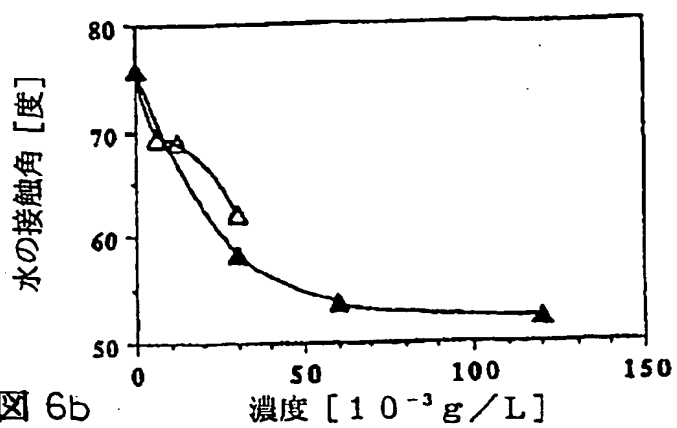


図 6b

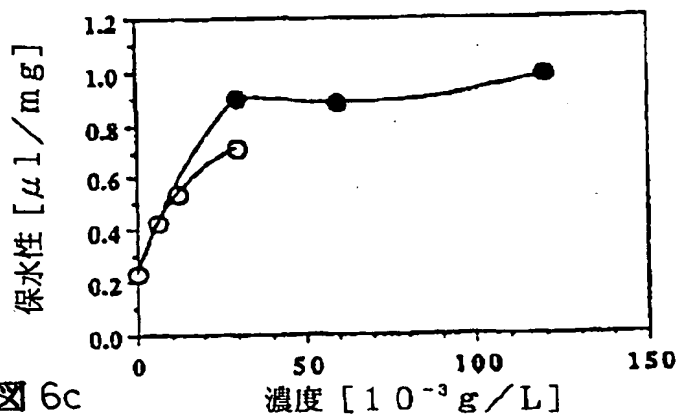
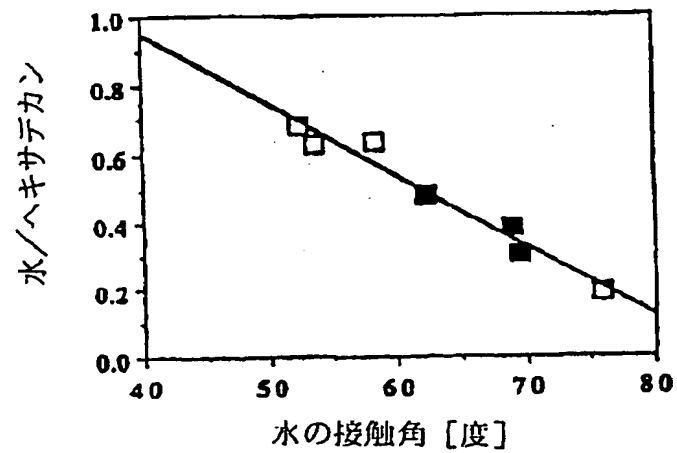


図 6c



【 図 7 】

図 7a

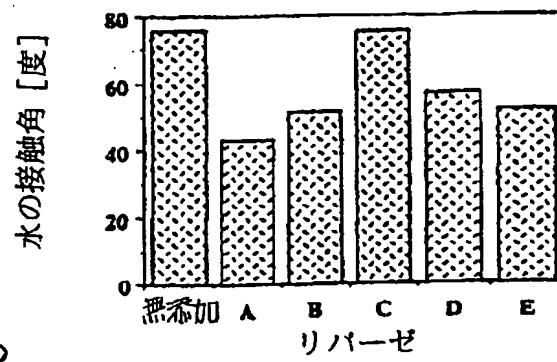


図 7b

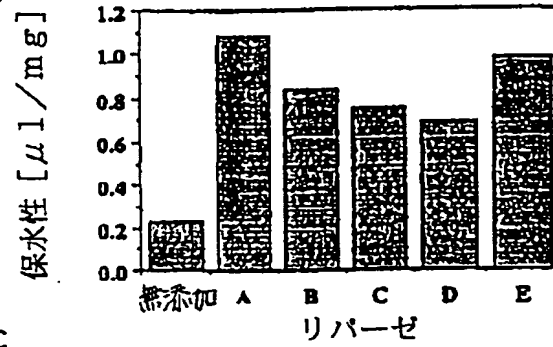
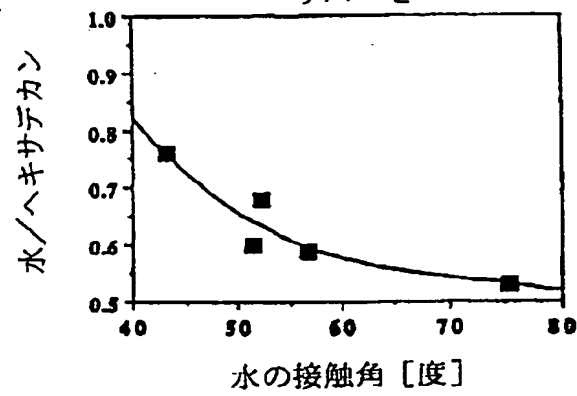


図 7c



【図8】

図8a

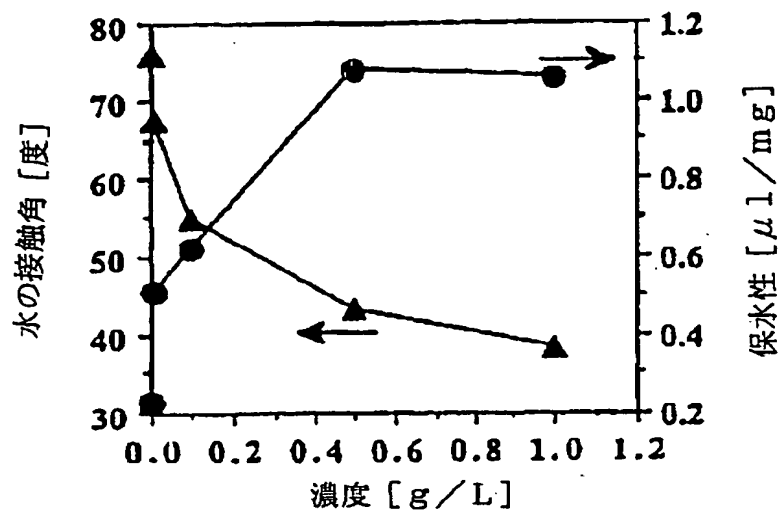
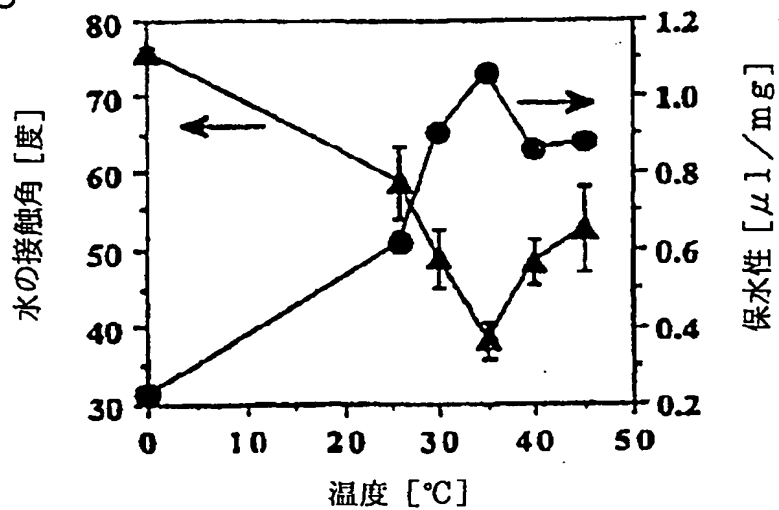
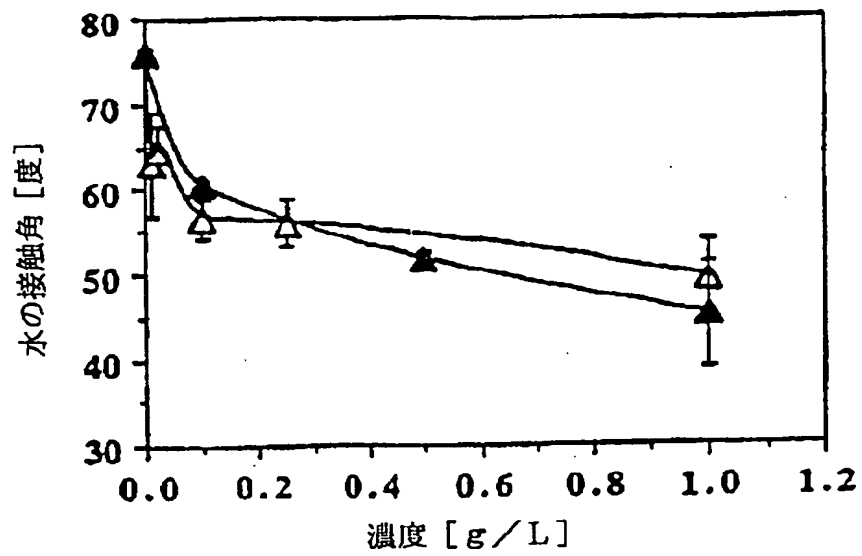


図8b



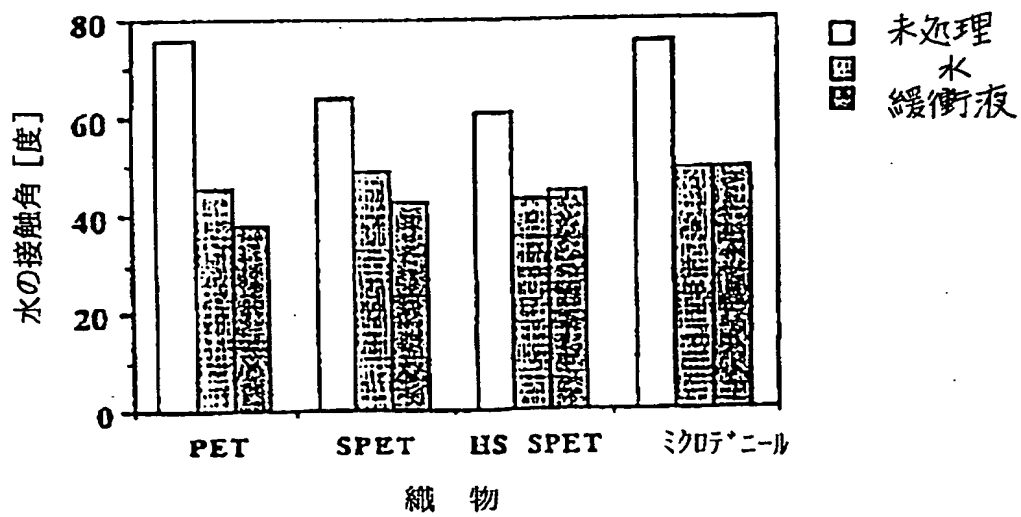
【図9】

図9



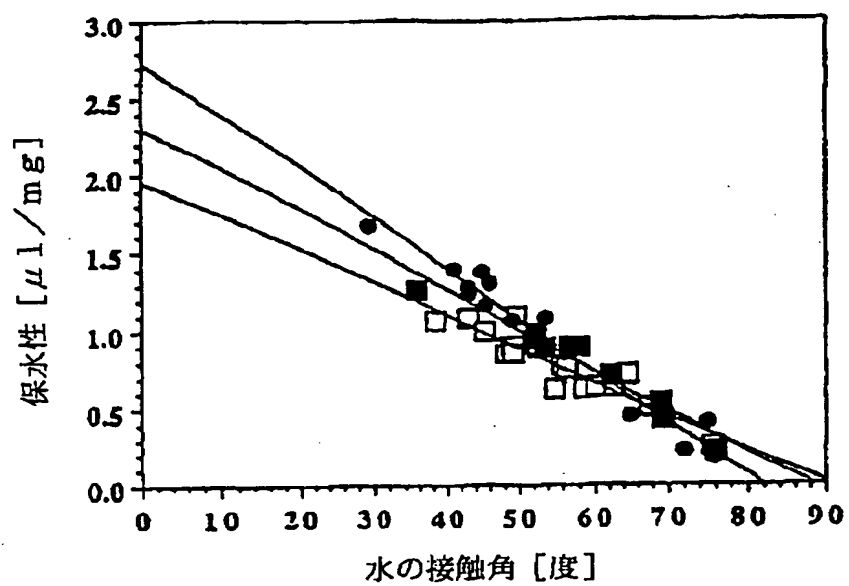
【図10】

図10



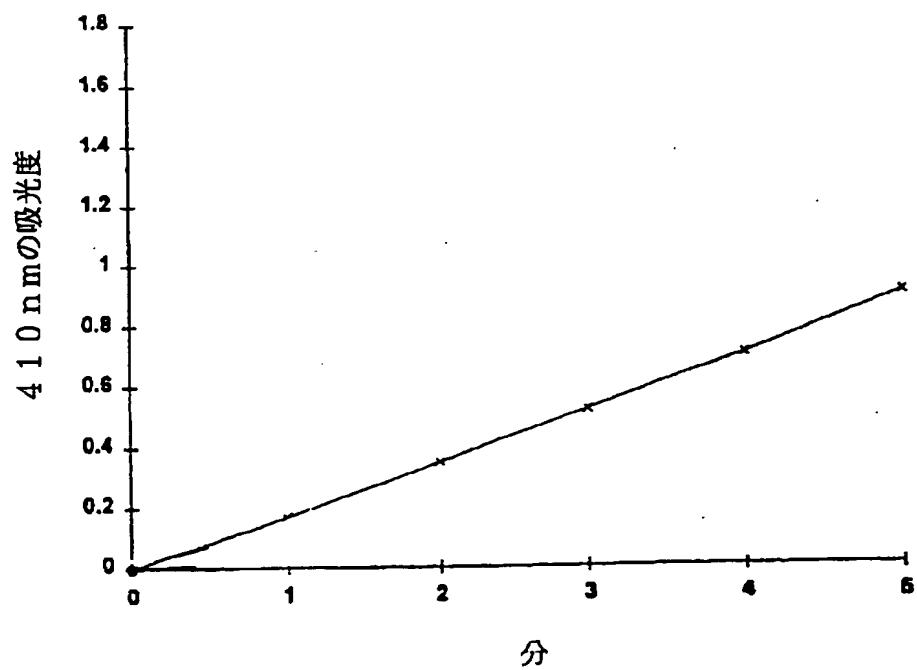
【図11】

図 11



【図12】

図 12



【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/US97/03411

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC(6) : C12S 11/00 US CL : 435/263 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) U.S. : 435/263, 264, 277, 279; 8/401, 138		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 93/13256 A1 (NOVO NORDISK A/S) 08 July 1993 (08.07.93), see entire document.	1, 3, 19, 20
X	JP 3-167366 A (GOMEI KAISHA IKEDAYA SENKOBAN) 19 July 1991 (19.07.91), see entire document.	1, 2, 3, 20
X	JP 3-167378 A (NAGASE SEIKAGAKU KO) 19 July 1991 (19.07.91), see entire document.	1, 2, 3, 20
X	Chemical Abstracts, Vol.120, No.8, 21 February 1994 (Columbus, OH, USA), page 127, column 2, to page 128, column 1, the abstract No. 120:79317m, CHESHKOVA ET AL. 'Use of an enzyme-containing formulation for treatment of cotton textiles.' Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved., Tekhnol. Tekst. Prom-sti. 1993, (3), 49-53 (Russ).	1
----- Y		2-20
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier documents published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" documents published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later documents published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 29 MAY 1997		Date of mailing of the international search report 24 JUN 1997
Name and mailing address of the ISA/US Commissioner of Patents and Trademarks Box PCT Washington, D.C. 20231 Facsimile No. (703) 305-3230		Authorized officer: <i>William H. Beisner</i> WILLIAM H. BEISNER Telephone No. (703) 308-0651

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/US97/03411

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	DE 42 28 785 A1 (HENKEL-ECOLAB GMBH UND CO.) 03 March 1994 (03.03.94), see entire document.	2-20
Y	Chemical Abstracts, Vol.114, No.4, 28 January 1991 (Columbus, OH, USA), page 77, column 1, the abstract No. 114:25677m, KAWABATA ET AL. 'Application of enzymes to textile industry.' Senshoku Kogyo. 1990, 38(8), 431-6 (Japan).	2-20
Y	US 5,460,966 A (DIXON) 24 October 1995 (24.10.95), see entire document.	8, 11, 14
Y	JP 6-264359 A (NISSHINBO IND INC) 20 September 1994 (20.09.94), see entire document.	9-12
Y	KIRK-OTHMER. 'Enzyme Applications (Industrial).' Encyclopedia of Chemical Technology. John Wiley & Sons, Vol. 9 (1994), pp. 602-604, see especially page 603.	15-18

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, KE, LS, MW, SD, SZ, UG), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, HU, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU

(72)発明者 シエ, ユーロ

アメリカ合衆国 95616 カリフォルニア
州 デービス オークアベニュー 915

(72)発明者 ハーツェル, メアリー ミッシェル

アメリカ合衆国 95616 カリフォルニア
州 デービス アーリントンブルバード
1333 ナンバー62

(72)発明者 ポストン, マシュー ジー.

アメリカ合衆国 94070 カリフォルニア
州 サンカルロス アーチレーン 10

(72)発明者 クラークソン, キャスリーン エイ.

アメリカ合衆国 94110 カリフォルニア
州 サンフランシスコ トウエンティエイ
トスストリート 53

(72)発明者 コリアー, キャサリーン ディー.

アメリカ合衆国 94062 カリフォルニア
州 レッドウッド シティ ウィルミン
トンウェー 915

(72)発明者 グレイカー, トーマス ビー.

アメリカ合衆国 94044 カリフォルニア
州 パシフィカ マンサニータ 1166

(72)発明者 ラレナス, エドマンド エイ.

アメリカ合衆国 94038 カリフォルニア
州 モスビーチ ネバダ 301

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.